

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 803 030**

51 Int. Cl.:

A61P 13/02 (2006.01)

A61K 31/137 (2006.01)

A61K 9/14 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.02.2015 PCT/GB2015/050406**

87 Fecha y número de publicación internacional: **20.08.2015 WO15121664**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.02.2015 E 15709543 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.05.2020 EP 3104848**

54 Título: **Formulaciones de partículas inhalables que comprenden un agente antimuscarínico**

30 Prioridad:

13.02.2014 GB 201402556

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

22.01.2021

73 Titular/es:

**CRYSTEC LTD. (100.0%)
Norcroft Building, University of Bradford,
Bradford
BD71DP, GB**

72 Inventor/es:

**LEDGER, DANIEL MARK;
DAINTREE, LINDA SHARON y
YORK, PETER**

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 803 030 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Formulaciones de partículas inhalables que comprenden un agente antimuscarínico

Campo de la invención

5 Esta invención se refiere a formulaciones en polvo que comprenden partículas de un agente antimuscarínico, en particular tolterodina o un compuesto relacionado con tolterodina, y a procedimientos de formación de dichas formulaciones en polvo.

Más específicamente, esta invención se refiere a formulaciones en polvo que comprenden tolterodina o un compuesto relacionado con tolterodina, tal como composiciones farmacéuticas en polvo para administración por inhalación o insuflación, al uso de dichas composiciones como medicamentos, así como a procedimientos de tratamiento que incluyen la administración de las composiciones. Las composiciones pueden ser útiles en particular para el tratamiento del trastorno urinario, asma, un grupo de trastornos respiratorios denominados Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC), y rinitis alérgica.

Antecedentes de la invención

15 La Patente de los Estados Unidos Núm. 5.382.600 desvela 3,3-difenilpropilaminas (sustituidas) útiles para tratar la incontinencia urinaria. En particular, desvela 2-[(1R)-3-(diisopropilamino)-1-fenilpropil]-4-metilfenol, también denominado N,N-diisopropil-3-(2-hidroxi-5-metilfenil)-3-fenilpropilamina, con el nombre genérico de tolterodina, por ser útil para tratar la incontinencia urinaria. La tolterodina es el compuesto del Ejemplo 22 de la Patente de los Estados Unidos Núm. 5.382.600.

La tolterodina puede ser preparada, por ejemplo, como es descrito en el documento WO98/29402.

20 H Postlind *et al*, Drug Metabolism and Disposition, 26(4): 289-293 (1998) desvela que la tolterodina es un antagonista del receptor muscarínico. Actualmente es comercializada en un número de países diferentes para el tratamiento de la incontinencia urinaria bajo el nombre Detrol®, así como genéricamente. Cuando la tolterodina es usada para tratar la incontinencia urinaria, es administrada de manera peroral como un comprimido. El metabolito activo principal de tolterodina es el derivado 5-hidroximetilo de tolterodina.

25 La Patente de los Estados Unidos Nro. 5.559.269 y H Postlind *et al*, Drug Metabolism and Disposition, 26(4): 289-293 (1998) desvelan la hidroxitolteraodina. La Patente de los Estados Unidos Núm. 5.559.269 desvela este compuesto como útil para tratar la incontinencia urinaria. Pharmacol. Toxicol., 81: 169-172 (1997) desvela que la hidroxitolteraodina tiene actividad antimuscarínica.

30 En el documento WO98/29402 son mencionadas sales de tolterodina de los siguientes ácidos: metanosulfónico, clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, fosfórico, nítrico, benzoico, cítrico, tartárico, fumárico, maleico, $\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_n\text{-COOH}$ en el que n es 0 a 4, y $\text{HOOC-(CH}_2\text{)}_n\text{-COOH}$ en el que n es como es definido con anterioridad.

35 La forma de administración de tolterodina actualmente comercializada es en comprimidos revestidos con película que contienen 1 mg, 2 mg o 4 mg de L-tartrato de tolterodina para liberación en el tracto gastrointestinal. Los consumidores requieren constantemente formas de administración con eficacia favorable y/o que simplifiquen el tratamiento, mejorando de este modo su calidad de vida.

40 El documento WO03/090734 desvela el uso de tolterodina para tratar el asma, EPOC, y rinitis alérgica y sugiere composiciones de tolterodina inhalables o insuflables. Dicho documento desvela sales de tolterodina de ácidos alifáticos mono y dicarboxílicos que comprenden de 7 a 24 átomos de carbono, ácidos alcanodisulfónicos que comprenden de 2 a 4 átomos de carbono y derivados del ácido naftoico que comprenden de 11 a 27 átomos de carbono.

El documento WO03/039464 desvela el uso de composiciones de tolterodina inhalables o insuflables para tratamiento del trastorno urinario.

45 La preparación de formulaciones en polvo inhalables o insuflables que comprenden un agente antimuscarínico, en particular tolterodina, posee desafíos particulares. Un problema enfrentado en esta área es el de los hábitos cristalinos poco útiles. Por ejemplo, la precipitación/cristalización de partículas de solvente orgánico de L-tartrato de tolterodina conduce a cristales con forma de aguja (aciculares) extensos, con la consecuencia de que la preparación directa de los tamaños de partícula requeridos para la deposición efectiva del fármaco en los compartimentos pulmonares centrales y profundos no es posible por cristalización convencional.

50 Una solución convencional para la preparación de formulaciones en polvo adecuadas es moler/micronizar el material acicular de mayor tamaño. Este enfoque, si bien produce partículas en intervalos respirables, generalmente resulta en material altamente cargado, muy cohesivo, que causa una severa manipulación corriente abajo y problemas de procesamiento. Además, tienden a ser formados dominios higroscópicos amorfos que varían en contenido entre las partidas de producto, lo que puede conducir a recristalización de partículas y crecimiento tras la captación de agua. Como podría esperarse, siendo una operación aleatoria, la molienda produce partículas con forma y tamaño

irregulares como resultado de la fractura y ruptura descontroladas de las partículas.

5 Un problema adicional con la molienda es que generalmente es obtenida una distribución alterada del tamaño de partículas. Por ejemplo, una distribución bimodal puede ser obtenida debido a la presencia de una proporción de partículas primarias, una cantidad significativa de partículas más grandes y un grado de aglomeración. También es generalmente observado que para los polvos micronizados un número más grande de partículas más pequeñas son adheridas a las superficies de partículas más grandes, debido a las superficies altamente cargadas y energizadas después de la molienda/micronización. Dicho material no formará aerosol de manera rápida y fácil.

10 El documento US2011/200678A1 desvela un procedimiento de secado por aspersión para formar partículas finas. El L-tartrato de tolterodina es mencionado como un ejemplo representativo de una sustancia fisiológica activa a la cual puede ser aplicado el procedimiento. Los ejemplos producidos por este procedimiento son considerados amorfos.

Es un objeto de la invención proporcionar formulaciones en polvo mejoradas que comprenden un agente antimuscarínico, en particular tolterodina, y/o resolver al menos un problema asociado con la técnica anterior, por ej., como es establecido con anterioridad en la presente memoria.

Declaraciones de la invención

15 Los aspectos y realizaciones de la invención abarcan formulaciones en polvo que comprenden o que consisten en partículas de un agente antimuscarínico, es decir tolterodina o un compuesto relacionado con tolterodina seleccionado de (R)-N,N-diisopropil-3-(2-hidroxi-5-hidroximetilfenil)-3-fenilpropanamina, (S)-N,N-diisopropil-3-(2-hidroxi-5-
20 metilfenil)-3-fenilpropanamina, (S)-N,N-diisopropil-3-(2-hidroxi-5-hidroximetilfenil)-3-fenilpropanamina, (R,S)-N,N-diisopropil-3-(2-hidroxi-5-metilfenil)-3-fenilpropanamina, y 2-[(1R)-3-(di(propan-2-il)amino)-1-fenilpropil]-4-(hidroximetil)fenil]2-metilpropanoato), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

Ventajosamente, las partículas del agente antimuscarínico pueden tener un D_{50} de 4 μm o menor y un D_{90} de 10 μm o menor. Ha sido descubierto que dichas partículas son fácilmente inhalables o insuflables y pueden ser obtenidas por precipitación supercrítica antidisolvente (SAS) para facilitar particularmente la inhalación o insuflación.

25 Ha sido descubierto que la precipitación SAS del agente antimuscarínico puede proporcionar partículas que sean más fácilmente inhalables que las partículas molidas.

Sin deseos de suscribir a ninguna teoría, al parecer la precipitación SAS conduce a partículas antimuscarínicas con formas y tamaños más fácilmente inhalables. Las superficies altamente cargadas y energizadas observadas en las partículas molidas pueden ser evitadas.

30 Esto puede ofrecer ventajas clínicas significativas, por ejemplo, por reducción de la dosis requerida y/o facilitamiento del inicio rápido.

De acuerdo con un primer aspecto de la invención, se proporciona una formulación en polvo que comprende o consiste en partículas de tolterodina o un compuesto relacionado con tolterodina seleccionado de (R)-N,N-diisopropil-3-(2-hidroxi-5-hidroximetilfenil)-3-fenilpropanamina, (S)-N,N-diisopropil-3-(2-hidroxi-5-metilfenil)-3-fenilpropanamina, (S)-N,N-diisopropil-3-(2-hidroxi-5-hidroximetilfenil)-3-fenilpropanamina, (R,S)-N,N-diisopropil-3-(2-hidroxi-5-metilfenil)-3-fenilpropanamina, y 2-[(1R)-3-(di(propan-2-il)amino)-1-fenilpropil]-4-(hidroximetil)fenil]2-metilpropanoato), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, dichas partículas son obtenibles u obtenidas por precipitación supercrítica antidisolvente (SAS) y tienen un D_{50} de 4 μm o menos y un D_{90} de 10 μm o menor.

40 Como es conocido en la técnica, D_{50} es el diámetro de partícula en el que una distribución acumulada del diámetro de partícula alcanza 50% en volumen, es decir, 50% en volumen de las partículas tienen un diámetro más pequeño que este valor, y 50% en volumen de las partículas tienen un diámetro más grande que este valor. De manera similar, D_{90} es el diámetro de partícula en el que una distribución acumulada del diámetro de partícula alcanza 90% en volumen, es decir, 90% en volumen de las partículas tienen un diámetro más pequeño que este valor, y 10% en volumen de las partículas tienen un diámetro más grande que este valor.

45 Todos los tamaños de partículas (diámetros) en la presente memoria son diámetros de partículas basados en volumen, medidos por ejemplo por difracción láser, y se relacionan con el diámetro máximo de las partículas. Los diámetros de las partículas pueden ser determinados usando un analizador del tamaño de partículas por difracción láser Sympatec Helos™ equipado con un sistema de microdosificación del polvo seco Aspiros™, usando una presión de aerosolización de 0,4 Mpa.

50 De manera adecuada, la formulación en polvo puede ser una formulación en polvo seco. La formulación en polvo puede ser adecuada para inhalación y/o insuflación. La formulación en polvo puede comprender ventajosamente, o consistir en, partículas de agente antimuscarínico que tiene un D_{50} de 4 μm o menor, o 3,5 μm o menor, o 3 μm o menor, o 2,5 μm o menor, o 2 μm o menor; y/o que tiene un D_{90} de 10 μm o menor, o 8 μm o menor, o 6 μm o menor, o 5 μm o menor.

En principio, el D_{50} y D_{90} pueden ser tan bajos como sea posible. Sin embargo, una distribución estrecha de los

diámetros de partículas ayuda en la aerosolización. En una realización, el D₅₀ es de 1 µm o mayor. En una realización, el D₉₀ es de 2 µm o mayor.

De manera adecuada, el diámetro volumétrico medio de las partículas el agente antimuscarínico puede ser de 7 µm o menor, en particular 5 µm o menor o incluso 3 µm o menor.

- 5 Ventajosamente, las partículas del agente antimuscarínico pueden tener una distribución unimodal del tamaño de partículas.

Los agentes antimuscarínicos son antagonistas del receptor muscarínico, es decir, agentes que bloquean la actividad del receptor de acetilcolina. Los agentes antimuscarínicos pueden ser no selectivos o selectivos para uno o más subtipos del receptor muscarínico, de los cuales cinco (M1 a M5) han sido determinados. En una realización, el agente antimuscarínico actúa sobre los subtipos M2 y M3.

El agente antimuscarínico referido en la presente memoria es tolterodina o un compuesto relacionado con tolterodina, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

Como es mencionado con anterioridad, el nombre químico de tolterodina es (R)-N,N-diisopropil-3-(2-hidroxi-5-metilfenil)-3-fenilpropanamina. El término "compuesto relacionado con tolterodina" es entendido que abarca el metabolito activo mayor de tolterodina, es decir, (R)-N,N-diisopropil-3-(2-hidroxi-5-hidroximetilfenil)-3-fenilpropanamina ("hidroxitolterodina"); el correspondiente (S)-enantiómero para tolterodina, es decir (S)-N,N-diisopropil-3-(2-hidroxi-5-metilfenil)-3-fenilpropanamina; el metabolito 5-hidroximetilo del (S)-enantiómero, es decir (S)-N,N-diisopropil-3-(2-hidroxi-5-hidroximetilfenil)-3-fenilpropanamina; así como el correspondiente racemato para tolterodina, es decir (R, S)-N,N-diisopropil-3-(2-hidroxi-5-metilfenil)-3-fenilpropanamina; y sus formas de profármaco. Un ejemplo de una forma de profármaco es fesoterodina (2-[(1R)-3-(di(propan-2-il)amino)-1-fenilpropil]-4-(hidroximetil)fenil] 2-metilpropanoato), que es bioactivado a hidroxitolterodina.

En una realización, el agente antimuscarínico comprende tolterodina.

En una realización, el agente antimuscarínico es una sal de tolterodina o un compuesto relacionado con tolterodina y uno de los siguientes ácidos: metansulfónico, clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, fosfórico, nítrico, benzoico, cítrico, tartárico, fumárico, maleico, CH₃-(CH₂)_n-COOH en el que n es 0 a 4, y HOOC-(CH₂)_n-COOH en el que n es 0 a 4, ácidos mono y dicarboxílicos alifáticos que comprenden de 7 a 24 átomos de carbono, ácidos alcandisulfónicos que comprenden de 2 a 4 átomos de carbono, y derivados del ácido naftoico que comprenden de 11 a 27 átomos de carbono. En una realización el agente antimuscarínico es un tartrato, en particular una sal de L-tartrato.

Las partículas del agente antimuscarínico pueden consistir esencialmente o totalmente en el agente antimuscarínico.

En una realización las partículas del agente antimuscarínico están en forma cristalina. Por forma cristalina es entendido cualquier forma del agente antimuscarínico que es esencialmente libre y preferentemente completamente libre de porciones amorfas de agente antimuscarínico. Por "esencialmente libre de porciones amorfas" se entiende que la forma contiene menos de 10% en peso, preferentemente menos de 5% en peso, y mucho más preferentemente menos de 1% en peso de agente antimuscarínico en forma amorfa, en el que los porcentajes en peso se refieren a la cantidad total de agente antimuscarínico. Las porciones cristalinas de un agente antimuscarínico pueden ser caracterizadas, por ejemplo, por medición por DSC y/o difracción del polvo por rayos X (PXR) como es conocido en la técnica. Tomando el ejemplo de L-tartrato de tolterodina, las partículas cristalinas de esta sal son fácilmente distinguibles porque tienen un endotermio de fusión brusco de 214 a 216°C (inicio) que es descompuesto tras la fusión.

Las ventajas particulares surgen de la precipitación SAS en el contexto de hábitos del cristal que no son conductivos a la formación de las partículas inhalables. Por un hábito de cristal acicular es entendido que el agente antimuscarínico forma, bajo condiciones convencionales de cristalización por evaporación del solvente, los cristales con una longitud en una dimensión que es al menos 4 veces, tal como al menos 6 veces, o incluso al menos 8 veces, la longitud de cualquier otra dimensión. Normalmente los cristales tienen forma de aguja.

Ha sido descubierto que la precipitación SAS puede superar ventajosamente los problemas asociados con los hábitos de cristal acicular y la molienda, permitiendo la administración más efectiva de agentes antimuscarínicos con un hábito de cristal acicular.

En una realización, el agente antimuscarínico es L-tartrato de tolterodina. Como es mencionado con anterioridad, la precipitación/cristalización de partículas de solvente orgánico del L-tartrato de tolterodina conduce a la formación de cristales aciculares inadecuados para inhalación o insuflación. Este compuesto tiene un hábito de cristal acicular bajo condiciones de cristalización por evaporación de solventes. Sin embargo, ha sido descubierto que la partículas que exhiben un hábitat con forma de aguja de longitud reducida ("forma de torpedo" beneficiosa para la fluidificación y aerosolización fáciles) y que tiene un tamaño de partículas inhalables o insuflables puede ser obtenido por precipitación SAS de L-tartrato de tolterodina.

Las formulaciones en polvo ventajosas que comprenden o consisten el partículas de agente antimuscarínico puede ser formado por precipitación SAS de dichas partículas. Las limitaciones y los problemas asociados con la

molienda/micronización, por ejemplo como fue descrito con anterioridad, pueden ser evitados. Como es conocido en la técnica, la precipitación SAS involucra contactar un antidisolvente (fluido) supercrítico o casi crítico con una solución, en el presente caso una solución de un agente antimuscarínico.

El contacto del antidisolvente con la solución conduce a la súper saturación y a la precipitación de las partículas.

- 5 Los aspectos y realizaciones de la invención abarcan procedimientos de precipitación de antidisolventes, en particular procedimientos de precipitación SAS, de formulaciones en polvo que se forman que comprenden o consisten en partículas del agente antimuscarínico.

La formulación en polvo de acuerdo con un primer aspecto puede ser obtenible de manera adecuada, o ser obtenida por cualquier procedimiento de precipitación de antidisolvente de cualquier aspecto o realización de la invención.

- 10 De acuerdo con un segundo aspecto de la invención, es proporcionado un procedimiento de formación de una formulación en polvo, comprendiendo el procedimiento poner en contacto un antidisolvente fluido con una solución de un agente antimuscarínico como es definido con anterioridad para precipitar las partículas del agente antimuscarínico. La formulación en polvo y/o las partículas pueden ser como es definido o describió con anterioridad con relación a los aspectos anteriores de la invención.

- 15 El antidisolvente puede, en principio, ser cualquier fluido consistente con el logro de la formación de partículas deseadas. Como es conocido en la técnica, un antidisolvente para precipitación es elegido generalmente de modo tal que el producto, en este caso el agente antimuscarínico, sea sustancialmente insoluble en éste. El rol del antidisolvente es, de este modo, extraer el solvente de la solución de agente antimuscarínico y precipitar partículas del agente antimuscarínico. Un ejemplo de un antidisolvente adecuado es dióxido de carbono.

- 20 En una realización, el antidisolvente es un fluido supercrítico, aunque en algunas realizaciones los fluidos casi críticos también pueden ser adecuados. Un "fluido supercrítico" es un fluido que se encuentra en o por encima de su presión crítica (P_c) y temperatura crítica (T_c) simultáneamente. En la práctica, es probable que la presión del fluido se encuentre en el intervalo entre 1,01 y 7,0 de su presión crítica, y su temperatura en el intervalo entre 1,01 y 4,0 de su temperatura crítica (en Kelvin). Sin embargo, algunos fluidos (por ej., helio y neón) tienen presiones y temperaturas críticas particularmente bajas, y puede ser necesario que sean usados en condiciones operativas muy en exceso de esos valores críticos, tales como hasta 200 veces el valor crítico relevante. El término "fluido casi crítico" abarca tanto líquidos de alta presión, que son fluidos en o sobre su presión crítica pero debajo (aunque preferentemente cerca de) su temperatura crítica, y vapores densos, que son fluidos en o sobre su temperatura crítica pero debajo (aunque preferentemente cerca de) su presión crítica. A modo de ejemplo, un líquido a alta presión podría tener una presión entre aproximadamente 1,01 y 7 veces su P_c , y una temperatura entre aproximadamente 0,5 y 0,99 veces su T_c . Un vapor denso podría, en consecuencia, tener una presión entre aproximadamente 0,5 y 0,99 veces su P_c , y una temperatura entre aproximadamente 1,01 y 4 veces su T_c .

En una realización, el antidisolvente fluido y la solución de agente antimuscarínico pueden formar una mezcla supercrítica o casi crítica por contacto.

- 35 En una realización, el antidisolvente es dióxido de carbono que tiene una presión en el intervalo de 75 a 15 Mpa. En una realización, el dióxido de carbono tiene una temperatura en el intervalo de 35 a 80°C.

En una realización, el antidisolvente tiene una densidad en el intervalo de 0,20 a 0,75 g/cm³. En una realización el antidisolvente tiene una densidad en el intervalo de 0,30 a 0,75 g/cm³, por ej., en el intervalo de 0,30 a 0,50 g/cm³, en particular en el intervalo de 0,30 a 0,40 g/cm³.

- 40 En una realización, un exceso elevado de antidisolvente es puesto en contacto con la solución de agente antimuscarínico. Por ejemplo, la relación de la fracción de masa del antidisolvente puesto en contacto con la fracción de masa de la solución de tolterodina puesta en contacto puede ser de 30 o mayor, o ventajosamente 200 o mayor.

- 45 En una realización, la relación de la fracción de masa del antidisolvente puesto en contacto con la fracción de masa de la solución de tolterodina puesta en contacto es de 30 o más y el antidisolvente fluido tiene una densidad en el intervalo de 0,30 a 0,75 g/cm³.

Las formulaciones que comprenden o consisten en partículas ventajosamente inhalables o insuflables de agente antimuscarínico pueden ser formadas en condiciones particulares de precipitación.

- 50 De acuerdo con un tercer aspecto de la invención, es proporcionado un procedimiento de formación de una formulación en polvo que comprende o consiste en el agente antimuscarínico, en particular L-tartrato de tolterodina, comprendiendo el procedimiento: poner en contacto una corriente de antidisolvente con una corriente de solución de L-tartrato de tolterodina para formar partículas de agente antimuscarínico, teniendo la corriente de antidisolvente una densidad en el intervalo de 0,20 a 0,75 g/cm³, en el que: (i) la relación de la fracción de masa del antidisolvente puesto en contacto con la fracción de masa de la solución de tolterodina puesta en contacto es 30 o mayor y el antidisolvente tiene una densidad en el intervalo de 0,30 a 0,75 g/cm³; y/o (ii) la relación de la fracción de masa del antidisolvente puesto en contacto con la fracción de masa de la solución de tolterodina puesta en contacto es 200 o mayor. El

antidisolvente puede ser adecuadamente dióxido de carbono, en particular dióxido de carbono supercrítico o casi crítico, como es mencionado con anterioridad.

5 Ventajosamente, ha sido encontrado que cuando la relación de la fracción de masa del antidisolvente puesto en contacto a la fracción de masa de la solución de tolterodina puesta en contacto es 30 o más y el antidisolvente tiene una densidad en el intervalo de 0,30 a 0,75 g/cm³; y/o (ii) la relación de la fracción de masa del antidisolvente puesto en contacto a la fracción de masa de la solución de tolterodina puesta en contacto es 200 o más, es posible producir partículas de L-tartrato de tolterodina que tienen un D₅₀ de 4 µm o menor un D₉₀ de 10 µm o menor. Ha sido encontrado que dichas partículas son fácilmente inhalables o insuflables.

10 En los procedimientos de la invención, la solución del ácido antimuscarínico puede ser preparada de cualquier manera adecuada y en cualquier sistema solvente adecuado. En una realización, la solución comprende 5 mg/ml o más de agente antimuscarínico, adecuadamente 10 mg/ml o más de agente antimuscarínico (en base al volumen del sistema solvente en la solución a atmósfera y presión estándares). La cantidad máxima de agente antimuscarínico en la solución generalmente solo está limitada por la solubilidad del agente en el sistema disolvente. En una realización, la solución comprende 100 mg/ml o menos, adecuadamente 50 mg/ml o menos de agente antimuscarínico (en base al volumen del sistema disolvente en la solución a atmósfera y presión estándares).

15 El sistema disolvente de la solución puede ser seleccionado para ser consistente con la solubilidad del agente antimuscarínico. En una realización, el sistema disolvente comprende un disolvente orgánico. Adecuadamente, el sistema disolvente puede comprender un alcohol. Por ejemplo, el sistema disolvente puede comprender o consistir en metanol, especialmente en el caso en el que el agente antimuscarínico comprende tolterodina, en particular L-tartrato de tolterodina.

20 El antidisolvente y la solución del agente antimuscarínico pueden ser puestos en contactos de cualquier manera consistente con la formación de partículas deseadas. En general, para lograr la precipitación, el antidisolvente y la solución son puestos en contacto de modo tal que la extracción de un sistema disolvente de la solución ocurre por la acción del antidisolvente. Adecuadamente, esto puede ocurrir en una cámara de precipitación, por ejemplo, una cámara en la cual la temperatura y la presión pueden ser controladas hasta niveles deseados. La energía de mezcla puede ser proporcionada por cizallamiento entre el antidisolvente y la solución, como es conocido en la técnica. Ventajosamente, el antidisolvente y la solución pueden ser puestos en contacto de modo tal que la dispersión y la extracción del sistema disolvente ocurren sustancialmente simultáneamente por la acción del antidisolvente. Adecuadamente, la energía de mezcla puede ser dispuesta para proporcionar una mezcla de fluidos homogénea casi instantánea del antidisolvente y la solución.

25 En una realización, el procedimiento comprende poner en contacto una corriente de antidisolvente a velocidad relativamente alta, con una solución de ácido muscarínico de corriente a velocidad relativamente baja. Las velocidades relativas de las dos corrientes de fluido pueden ser manipuladas adecuadamente por variación del diámetro y el área de corte transversal de las respectivas corrientes o boquillas para administrar las corrientes, y control del caudal de cada corriente de fluido. Por ejemplo, la velocidad de una corriente puede ser controlada por una placa con orificio de diámetro fijo. Este diámetro puede ser dispuesto para mantener una temperatura y presión ajustadas en el lado ascendente de la placa del orificio, mientras es mantenido un caudal específico a través del orificio. La velocidad de la corriente resultante puede ser calculada usando la densidad del fluido corriente arriba de la placa con orificio (por referencia a la temperatura y la presión), el flujo de masa del fluido, el área de corte transversal del orificio y la presión diferencial a través del orificio (ecuación dada en Crystallization process in turbulent supercritical flows, Shekunov, B Yu, Hanna M, York P J Crystal Growth, 198-199, 1345-1351 (1999)).

30 La cantidad de energía cinética adecuada para mezclar las dos corrientes de fluido e iniciar la súper saturación varía entre cada soluto y cada mezcla de disolvente usados. En una realización, la velocidad del antidisolvente está en el intervalo de 12 a 360 m/seg⁻¹. La velocidad de la solución de ácido antimuscarínico es normalmente menor que la velocidad de la corriente de antidisolvente y no es crítica para la invención. En una realización, la relación de velocidad entre la corriente de antidisolvente y la solución está en el intervalo de 500:1 a 1000:1.

35 Adecuadamente, el antidisolvente y la solución pueden ser introducidos en una cámara de precipitación a través de pasajes respectivos con salidas respectivas, estando las salidas dispuestas con relación entre sí de modo tal que el antidisolvente introducido a través de un primer pasaje y la solución introducida a través de un segundo pasaje ingresen, ambos, a la cámara de precipitación sustancialmente en el mismo punto, que es sustancialmente el punto en el cual se encuentran el antidisolvente y la solución. Para proporcionar buenos niveles de mezcla y dispersión, el antidisolvente y la solución pueden, por ejemplo, ser coalimentados en una cámara de precipitación a través de una boquilla que tiene pasajes coaxiales que terminan adyacentes entre sí. Alternativamente, uno o más corrientes del antidisolvente pueden ser dispuestos para impactar en una corriente de la solución para proporcionar buenos niveles de mezcla y dispersión. Sin embargo, también son posibles otras arquitecturas de mezcla. Los ejemplos de aparato adecuado son conocidos, entre otros, de los documentos WO-95/01221, WO-96/00610, WO-98/36825, WO-99/44733, WO-99/59710, WO-01/03821, y WO-03/008082, que son incorporados a la presente memoria por referencia.

40 Los aspectos de la invención abarcan composiciones farmacéuticas que comprenden o consisten en una cantidad terapéuticamente efectiva de una formulación en polvo de acuerdo con la invención, por ej., como es descrito con

anterioridad, o según sea obtenible por un procedimiento de acuerdo con la invención, por ej., como es descrito con anterioridad.

5 En un cuarto aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende o consiste en una cantidad terapéuticamente efectiva de un agente antimuscarínico como fue definido con anterioridad, siendo dichas partículas obtenibles por precipitación de antidisolvente supercrítico (SAS) y con un D_{50} de 4 μm o menor y un D_{90} de 10 μm o menor.

En una realización, la composición farmacéutica es una composición en polvo seco. Sin embargo, la composición puede tomar cualquier forma adecuada conocida en la técnica. Adecuadamente, las partículas pueden ser suspendidas en un vehículo no disolvente.

10 En una realización, la composición farmacéutica tiene la forma de una mezcla física y comprende un excipiente farmacéutico adecuado para las partículas de agente antimuscarínico.

15 En una realización, la composición farmacéutica comprende un excipiente. Las cantidades adecuadas de excipiente son conocidas para los expertos en la técnica. Por ejemplo, uno o más excipientes pueden estar presentes en una cantidad de 50 a 99 % en peso de la composición total, adecuadamente 60 a 95% en peso de la composición total. El excipiente puede ser de tipo convencional y puede ser obtenido por cualquier proceso adecuado. Un ejemplo de un excipiente adecuado es lactosa inhalable.

Adecuadamente, la composición farmacéutica puede comprender una formulación y/o partículas como es descrito o definido con respecto a los aspectos anteriores de la invención. En una realización, la composición farmacéutica comprende o consiste en partículas de L-tartrato de tolterodina.

20 En un quinto aspecto de la invención, es proporcionado el uso de una composición farmacéutica de acuerdo con la invención, por ej., como es descrito con anterioridad, como un medicamento. En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas pueden ser para tratar, en un ser humano u otro animal, un trastorno seleccionado del grupo que consiste en: trastorno urinario, asma, EPOC, y rinitis alérgica. En una realización preferente, el tratamiento es por inhalación o insuflación. En una realización, el tratamiento es por administración pulmonar.

25 En una realización, el trastorno puede ser uno que requiera un alivio rápido, por ej., un alivio sintomático rápido, o un inicio rápido de la acción del agente antimuscarínico. El tratamiento puede ser, de este modo, para proporcionar un alivio rápido, por ej., un alivio sintomático rápido, o inicio de la acción del agente antimuscarínico dentro de un período breve de tiempo, por ej., menor que 10 minutos, o menor que 5 minutos, o menor que 2 minutos, o menor que 30 segundos. El rápido alivio o inicio rápido de la acción puede, por ejemplo, ser definido como lograr al menos 50% de la exposición plasmática pico al agente antimuscarínico, más preferentemente al menos 70% de la exposición plasmática pico al agente antimuscarínico dentro del tiempo relevante. Adicionalmente o alternativamente, el rápido alivio o inicio rápido de la acción pueden ser definidos como una mejora de al menos 10%, preferentemente al menos 20%, más preferentemente al menos 30% o incluso al menos 40% en al menos un sistema de graduación asociado con el trastorno dentro del tiempo relevante. Los ejemplos de un sistema de graduación adecuado para trastornos urinarios son el puntaje de percepción de urgencia "UPS" (J Urol. 2007 Jan;177(1):199-202), la Escala de Gravedad de la Urgencia de Indevus "IUSS" (J Urol. 2005 Aug;174(2):604-7), o la percepción del paciente de intensidad de la escala de urgencia "PPIUS" (BMC Urology 2012, 12:26). Otros sistemas de graduación adecuados también son conocidos en la técnica.

40 En una realización, la composición farmacéutica puede ser para tratar la incontinencia urinaria, en particular la incontinencia urgente, incontinencia por estrés o incontinencia mixta. El tratamiento de dichos síntomas/trastornos es beneficiado particularmente del alivio rápido.

45 También es contemplado en la presente memoria un procedimiento de tratamiento de un trastorno en un ser humano u otro mamífero, que comprende administrar a dicho ser humano u otro mamífero necesitado de dicho tratamiento, una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición farmacéutica de acuerdo con la invención. En una realización preferente, dicha administración es realizada por inhalación o insuflación.

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden ser optimizadas en particular para el tratamiento del trastorno urinario, en particular la incontinencia de urgencia, incontinencia por estrés o incontinencia mixta, por inhalación o insuflación.

50 En una realización, es proporcionada una composición farmacéutica en polvo seco que comprende o consiste en partículas de L-tartrato de tolterodina, siendo dichas partículas obtenibles por precipitación de antidisolvente supercrítico (SAS) y con un D_{50} de 4 μm o menor y un D_{90} de 10 μm o menor, para el tratamiento del trastorno urinario por inhalación o insuflación.

55 Los aspectos de la invención abarcan cantidades particulares de las formulaciones en polvo y las composiciones farmacéuticas en polvo. En una realización es proporcionada una cantidad de al menos 0,1 mg, en particular al menos 0,2 mg, o incluso al menos 1 mg de una formulación en polvo o una composición farmacéutica de acuerdo con la invención, o según sea obtenible por un procedimiento de acuerdo con la invención.

Los aspectos de la invención abarcan dispositivos de inhalación o insuflación que comprenden una composición farmacéutica de acuerdo con la invención.

5 Desde otro aspecto, la invención reside en un dispositivo de inhalación o insuflación, por ejemplo, un inhalador de dosis medida o un inhalador de polvo seco, que contiene para dispensación una composición farmacéutica de acuerdo con la invención u obtenible por un procedimiento de acuerdo con la invención.

10 A lo largo de la descripción y en las reivindicaciones de la presente memoria descriptiva, los términos "comprenden" y "contienen" y sus variaciones, por ejemplo, "que comprenden" y "comprende", significan "que incluye pero sin limitación", y no excluyen otras fracciones, otros aditivos, componentes, números enteros o etapas. Más aún, el uso del singular abarca el plural a menos que el contexto requiera lo contrario: en particular, cuando es usado el artículo indefinido, la memoria descriptiva debe ser comprendida como contemplativa de la pluralidad así como de la singularidad, a menos que el contexto requiera lo contrario.

15 Los atributos de cada aspecto de la invención pueden ser como es descrito en conexión con cualquiera de los otros aspectos. Otros atributos de la invención resultarán evidentes a partir de los siguientes ejemplos. De este modo, los atributos, los números enteros, las características, los compuestos, las fracciones químicas o los grupos descritos en conjunción con un aspecto, realización o ejemplo particulares de la invención deberán comprenderse como aplicables a cualquier otro aspecto, realización o ejemplo descrito en la presente memoria a menos que sea incompatible con esta. Más aún, a menos que se declare lo contrario, cualquier atributo desvelado en la presente memoria puede ser reemplazado por un atributo alternativo que cumpla con el mismo propósito o uno similar.

20 Cuando son mencionados límites superiores e inferiores para una propiedad, entonces un intervalo de valores definidos por una combinación de cualquiera de los límites superiores con cualquiera de los límites inferiores también puede ser implícito.

En la presente memoria descriptiva, las referencias a propiedades son - a menos que se declare lo contrario - a propiedades medidas bajo temperatura y presión estándar, es decir, a presión atmosférica y a una temperatura de 20°C.

25 A continuación, la presente invención es descrita de manera adicional con referencia a los siguientes ejemplos no limitativos y a los dibujos ilustrativos adjuntos, de los cuales:

La Figura 1 es un análisis por PXRD de partículas de L-tartrato de tolterodina precipitadas en el Ejemplo 1;

Las Figuras 2a y 2b muestran un análisis térmico de partículas de L-tartrato de tolterodina precipitadas en el Ejemplo 1;

30 La Figura 3a es un SEM de partículas de L-tartrato de tolterodina precipitadas en el Ejemplo 1;

Las Figuras 3b y 3c son respectivamente análisis del tamaño de las partículas de L-tartrato de tolterodina molido, y partículas de L-tartrato de tolterodina precipitadas en el Ejemplo 1;

Las Figuras 4a y 4b son respectivamente trazas de HPLC para L-tartrato de tolterodina (material de partida), y partículas de L-tartrato de tolterodina precipitadas en el Ejemplo 1;

35 La Figura 5a es un SEM de partículas de L-tartrato de tolterodina precipitadas en el Ejemplo C1;

La Figura 5b es un SEM de partículas de L-tartrato de tolterodina precipitadas en el Ejemplo C2;

La Figura 5c es un SEM de partículas de L-tartrato de tolterodina precipitadas en el Ejemplo C3;

La Figura 5d es un SEM de partículas de L-tartrato de tolterodina precipitadas en el Ejemplo C4;

La Figura 5e es un SEM de partículas de L-tartrato de tolterodina precipitadas en el Ejemplo C5;

40 La Figura 6 muestra distribuciones del tamaño de partículas de partículas de L-tartrato de tolterodina precipitadas en el Ejemplo 31;

La Figura 7 muestra datos de farmacocinética para el Grupo 1 (dosis de 0,1 mg/kg durante 10 minutos) en el Ejemplo 32

45 La Figura 8 muestra datos de farmacocinética para el Grupo 2 (dosis de 0,3 mg/kg durante 10 minutos) en el Ejemplo 32;

La Figura 9 muestra datos de farmacocinética para el Grupo 3 (dosis de 1,0 mg/kg durante 10 minutos) en el Ejemplo 32;

Las Figuras 10a a 10b son SEM de partículas de L-tartrato de tolterodina formadas por cristalización convencional por evaporación del disolvente; y

Las Figuras 10c y 10d son SEM de las partículas de L-tartrato de tolterodina de la Figura 10a y 10b respectivamente tras la molienda.

Ejemplos

Ejemplo comparativo (molienda)

- 5 Con referencia a las Figuras 10a a 10d, una solución convencional a la preparación de las formulaciones en polvo es moler/micronizar el material acicular más grande. Este enfoque, si bien produce partículas en intervalos respirables, generalmente resulta en materiales altamente cargados, muy cohesivos, que causan severa manipulación corriente abajo y problemas de procesamiento.
- 10 Con referencia a las Figuras 10c y 10c, como podría esperarse, siendo una operación aleatoria, la molienda produce partículas con formas y tamaños irregulares como resultado de la fractura y ruptura descontroladas de las partículas.
- Con referencia a la Figura 3b, el análisis del tamaño de las partículas del L-tartrato de tolterodina molido muestra una distribución relativamente amplia, con un porcentaje relativamente alto de partículas mayor que 5 micrones (aproximadamente 20%).

Ejemplos 1 a 33 - L-tartrato de Tolterodina / Ejemplos C1 a C5

- 15 Los experimentos son conducidos con el objeto de formar partículas ventajosamente inhalables o insuflables de L-tartrato de tolterodina usando precipitación de antidisolvente supercrítico (SAS).
- El L-tartrato de tolterodina forma cristales aciculares (con aspecto de aguja). Las partículas aciculares crecen extremadamente rápido en una dimensión. Esto presenta desafíos particulares en el contexto de precipitación de las partículas inhalables o insuflables. Las condiciones específicas de formación de partículas para proporcionar partículas fácilmente inhalables o insuflables, en particular partículas con percentiles de D_{50} y D_{90} entre 1 y 4 μm y 2 y 10 μm y el diámetro volumétrico medio $< 7 \mu\text{m}$, más preferentemente $< 5 \mu\text{m}$ respectivamente fueron investigados.
- 20 El procedimiento usado para generar partículas de L-tartrato de tolterodina inhalable es un proceso SAS (antidisolvente supercrítico).
- Para cada ejemplo, el L-tartrato de tolterodina es disuelto en metanol.
- 25 Una corriente de la solución de L-tartrato de tolterodina es puesta en contacto con una corriente de dióxido de carbono supercrítico o casi crítico en una cámara de precipitación, con la ayuda de una disposición de boquillas de mezcla, para formar partículas de L-tartrato de tolterodina.
- El efecto de un intervalo de condiciones de formación de partículas sobre la precipitación de las partículas s examinado en los Ejemplos 1 a 33, de los cuales son variadas las condiciones de la formación de partículas.
- 30 Las condiciones de formación de partículas que son variadas son enumeradas en la Tabla 1, junto con los resultados del tamaño de partículas. En mayor detalle, la Tabla 1 se refiere a las siguientes condiciones/resultados de formación de partículas:
- El volumen de la cámara de precipitación ("Volumen de cámara"), indicado en mililitros (ml).
 - El tipo de disposición de boquillas de mezcla ("Tipo de Boquilla") - en una primera disposición de boquillas (Tipo I) el dióxido de carbono fue dispuesto para recaer sobre una corriente de la solución para proporcionar alto cizallamiento, mientras que en una segunda disposición de boquillas el dióxido de carbono y la solución son coalimentadas en la cámara de precipitación a través de una boquilla que tiene pasajes coaxiales que terminan adyacentes entre sí, proporcionando menos cizallamiento, habiendo allí una primera variante con un diámetro del orificio de dióxido de carbono de 750 micrómetros (Tipo II) y una segunda variante con un diámetro del orificio de dióxido de carbono de 200 micrómetros (Tipo III).
 - La concentración de L-tartrato de tolterodina en la solución de metanol ("Concentración de solución de fármaco"), indicada en miligramos por mililitro de metanol (mg/ml).
 - La temperatura de la corriente de dióxido de carbono ("CO₂ T") indicada en grados Celsius (°C)
 - La presión atmosférica de la corriente de dióxido de carbono ("CO₂ p") indicada en megapascales (Mpa)
 - La densidad de la corriente de dióxido de carbono ("Densidad de CO₂") indicada en gramos por centímetro cúbico (g/cm³)
 - El caudal de la solución de L-tartrato de tolterodina en la cámara de precipitación ("Flujo de solución del fármaco") indicado en gramos por minuto (g/min)

ES 2 803 030 T3

- El caudal del dióxido de carbono en la cámara de precipitación ("Flujo de CO₂") indicado en gramos por minuto (g/min)
- La velocidad de la corriente de dióxido de carbono que entra en la cámara de precipitación ("velocidad de CO₂") indicada en metros por segundo (m/s)
- 5 – La relación ("flujos en relación de fracción de masa") de la fracción de masa del flujo de dióxido de carbono en la cámara de precipitación ($\text{Flujo de CO}_2 / [\text{Flujo de CO}_2 + \text{Flujo de solución de fármaco}]$) sobre la fracción de masa de la solución del flujo de solución de L-tartrato de tolterodina en la cámara de precipitación ($\text{Flujo de solución de fármaco} / [\text{Flujo de CO}_2 + \text{Flujo de solución de fármaco}]$), sin dimensión.
- 10 – El diámetro de partícula en el que una distribución acumulada del diámetro de partícula de las partículas precipitadas de L-tartrato de tolterodina alcanza 50% en volumen, es decir, 50% en volumen de las partículas tienen un diámetro menor que este valor, y 50% en volumen de las partículas tienen un diámetro mayor que este valor. ("D₅₀"), indicado en micrómetros (µm).
- 15 – El diámetro de partículas en el que una distribución acumulada del diámetro de partícula de las partículas de L-tartrato de tolterodina alcanza 90% en volumen, es decir, 90% en volumen de las partículas tienen un diámetro menor que este valor, y 10% en volumen de las partículas tienen un diámetro mayor que este valor ("D₉₀"), indicado en micrómetros (µm).
- El diámetro volumétrico medio ("VMD") de las partículas precipitadas de L-tartrato de tolterodina, indicado en micrómetros (µm).

Tabla 1

Ejemplo Núm.	Volumen del recipiente (ml)	Tipo de boquilla	Concentración en solución de fármaco (mg/ml)	CO ₂ T (°C)	CO ₂ p (Mpa)	Densidad de CO ₂ (g/cm ³)	Flujo de solución de fármaco (g/min)	Flujo de CO ₂ (g/min)	Velocidad de CO ₂ (m/s)	Flujos en relación de masa	D ₅₀ (µm)	D ₉₀ (µm)	VMD (µm)
1	600	Tipo I	31,25	40	8,5	0,353	0,16	36	54,13	226	1,2	2,5	1,4
2	600	Tipo I	41,67	40	8,5	0,353	0,16	36	54,13	226	1,2	2,7	1,5
4	600	Tipo I	31,25	35	8,5	0,419	0,16	36	45,60	226	2,1	5,7	2,7
5	50	Tipo II	31,25	40	8,5	0,353	0,32	20	30,07	63	2,2	5,1	2,7
6	50	Tipo II	31,25	40	8,5	0,353	0,16	20	30,07	126	2,2	5,0	2,6
7	50	Tipo III	31,25	40	8,5	0,353	0,32	20	30,07	63	2,2	5,8	2,9
8	200	Tipo I	31,25	40	8,5	0,353	0,32	36	54,13	177	1,2	3,2	1,6
9	200	Tipo I	31,25	40	8,5	0,353	0,32	20	30,07	63	2,2	5,4	2,7
10	200	Tipo I	31,25	40	8,5	0,353	0,08	20	30,07	249	2,4	8,4	3,7
11	200	Tipo I	31,25	40	8,5	0,353	0,16	20	30,07	126	1,5	5,2	4,8
12	200	Tipo I	31,25	40	8,5	0,353	0,48	20	30,07	42	2,0	8,4	3,5
13	200	Tipo I	31,25	40	8,5	0,353	0,63	20	30,07	32	3,4	9,3	4,4
14	200	Tipo I	5	40	8,5	0,353	0,16	20	30,07	126	1,8	6,3	6,6
15	200	Tipo I	10	40	8,5	0,353	0,16	20	30,07	126	1,4	4,1	2,0
16	200	Tipo I	31,25	35	8,5	0,612	0,16	20	17,35	126	2,2	8,2	3,6
17	200	Tipo I	31,25	40	12	0,718	0,16	36	26,61	226	2,7	8,1	3,7
18	200	Tipo I	31,25	35	8	0,419	0,16	36	45,60	226	2,1	5,7	2,7
19	200	Tipo I	31,25	45	8,5	0,281	0,16	36	68,00	226	1,2	2,7	1,5
20	200	Tipo I	31,25	50	95	0,330	0,16	36	57,90	226	1,2	2,8	1,5
21	200	Tipo I	31,25	40	8,5	0,353	0,79	36	54,13	46	2,7	6,9	3,3
22	200	Tipo I	31,25	40	75	0,232	0,16	36	82,36	226	1,1	2,4	1,4

Ejemplo Núm.	Volumen del recipiente (ml)	Tipo de boquilla	Concentración en solución de fármaco (mg/ml)	CO ₂ T (°C)	CO ₂ p (Mpa)	Densidad de CO ₂ (g/cm ³)	Flujo de solución de fármaco (g/min)	Flujo de CO ₂ (g/min)	Velocidad de CO ₂ (mis)	Flujos en relación de masa	D ₅₀ (µm)	D ₉₀ (µm)	VMD (µm)
23	200	Tipo I	31,25	60	10,5	0,322	0,16	36	59,34	226	1,3	2,7	1,5
24	200	Tipo I	31,25	70	11	0,294	0,16	36	64,99	226	1,4	2,7	1,6
25	200	Tipo I	31,25	80	12,5	0,318	0,16	36	60,09	226	1,7	3,6	2,0
26	200	Tipo I	31,25	50	1,5	0,700	0,16	36	27,30	226	2,9	8,2	3,8
27	200	Tipo I	31,25	80	2	0,594	0,16	36	32,17	226	3,1	8,9	4,2
28	50	Tipo I	31,25	40	8,5	0,353	0,16	20	30,07	126	2,9	9,3	4,7
29	2000	Tipo I	31,25	40	8,5	0,353	0,88	200	300,73	226	1,8	4,6	2,3
30	2000	Tipo I	31,25	40	8,5	0,353	1,60	200	300,73	126	1,6	4,4	4,5
31	2000	Tipo I	31,25	50	9,5	0,330	0,88	200	321,69	226	1,3	3,3	3,5
32	2000	Tipo I	31,25	60	10,5	0,322	0,88	200	329,68	226	1,4	3,3	3,5
33	2000	Tipo I	31,25	50	11	0,503	0,88	200	211,05	226	2,0	5,0	2,6
C1	200	Tipo I	31,25	40	20	0,840	0,32	36	22,75	113		>10	
C2	200	Tipo I	31,25	40	7,5	0,232	0,16	20	45,76	126		>10	
C3	200	Tipo I	31,25	40	20	0,840	0,16	20	37,78	126	3,9	17,9	6,0
C4	200	Tipo I	31,25	40	15,0	0,780	0,16	36	24,50	226	3,8	11,9	5,4
C5	200	Tipo I	31,25	50	20	0,784	0,16	36	24,37	226	4,3	13,0	5,9

Tras de los estudios experimentales extensivos con procesamiento SAS que incluyen las temperaturas y presiones alternativas y la consideración de un intervalo de disolvente y sistemas codisolventes diferentes, ha sido establecido un conjunto de condiciones de formación de partículas que permite que sean preparadas las partículas de tolterodina con las características requeridas (véanse los Ejemplos).

Los Ejemplos 1 a 33 producen, cada uno, polvos finos fluidos. Estos Ejemplos muestran que las partículas fácilmente inhalables o insuflables de L-tartrato de tolterodina, en particular partículas con percentiles de D_{50} y D_{90} entre 1 y 4 μm y 2 y 10 μm y diámetro volumétrico medio $<7 \mu\text{m}$, más preferentemente $<5 \mu\text{m}$, son obtenidas cuando:

- la relación de la fracción de masa del dióxido de carbono puesto en contacto con la fracción de masa de la solución de tolterodina puesta en contacto es de 30 o mayor y el dióxido de carbono tiene una densidad en el intervalo de 0,30 a 0,75 g/cm^3 ; y/o
- la relación de la fracción de masa del dióxido de carbono puesto en contacto con la fracción de masa de la solución de tolterodina puesta en contacto es de 200 o mayor.

Inesperadamente, ha sido descubierto a mayor flujo de dióxido de carbono (relación de fracción de masa de 200 o mayor), es posible producir partículas inhalables a temperatura más alta (50°C, 60°C, 70°C y 80°C), presión más alta (12,5 Mpa, 15 Mpa y 20 Mpa) y caudal de solución (0,79 g/min). A menor flujo de dióxido de carbono, una densidad de 0,30 a 0,75 g/cm^3 del dióxido de carbono, que corresponde con los intervalos más estrechos de temperatura y presión, ayuda a la formación ventajosa de partículas.

La confirmación de identidad química y polimórfica de las partículas obtenidas en el Ejemplo 1 es evaluada por difracción de polvo por rayos X (PXRD) y calorimetría por barrido diferencial (DSC). Específicamente la determinación de la cristalinidad es llevada a cabo usando el Difractómetro de Bruker AXS (Karlsruhe, Germany) modelo D8 Advance X-Ray. Los datos son recolectados entre 2° y 40° 2 θ en un modo por etapas (etapa: 0,04 °/min). Los experimentos de DSC son ejecutados en un DSC TA Instruments Q2000 equipado con sistema de enfriamiento refrigerado RCS90 a 10°C/min y los experimentos de TGA son llevados a cabo en un TA Instruments Q5000 TGA a 10°C/min.

Las Figuras 1, 2a y 2b muestran el patrón de difracción de polvo por rayos X y el análisis térmico producido en el Ejemplo 1.

El análisis por PXRD muestra que el material procesado por SCF es cristalino con picos característicos de L-tartrato de tolterodina.

Los datos de la DSC (calorimetría de barrido diferencial) muestran que las partículas exhiben una brusca endotermia por fusión de 214°C (inicio) que es descompuesta tras fusión.

De esta manera, puede ser concluido con que las partículas consisten en la forma cristalina de L-tartrato de tolterodina.

El análisis por SEM (microscopio electrónico de barrido) de las partículas del Ejemplo 1 muestra una morfología con forma de torpedo para las partículas (Figura 3a) con una distribución estrecha del tamaño de las partículas para la administración respiratoria del fármaco. Notablemente estas partículas tienen una forma diferente a las partículas molidas de las Figuras 10c y 10d y no sufren la aglomeración observada en las partículas molidas.

La distribución del tamaño de las partículas para el material es más regular, con un tamaño de partículas más estrecho en comparación con el material molido. Todas las partículas aparentan ser independientes sin ninguna adherencia de partículas 'más pequeñas' a las superficies de otras partículas, un reflejo de la topografía superficial mejorada y más suave, lo que facilita la aerosolización de las partículas.

Una comparación entre las Figuras 3b y 3c ilustra las distribuciones más estrechas del tamaño de partículas a tres presiones de aerosolización para el material procesado por SCF.

La pureza química de las partículas obtenidas en el Ejemplo 1 es evaluada por cromatografía líquida de alta presión usando un módulo de separaciones Waters 2790 acoplado con un detector de disposición de fotodiodos Waters 996. El procedimiento de HPLC usa una columna C18 (5mm, 150 x 4,6mm) protegida con una precolumna. La fase móvil consiste en acetonitrilo-acetato de amonio 20 mM (50:50 v/v), usando un caudal de 1,2 ml/min. La muestra eluye a 3,7 min.

Con referencia a las Figuras 4a y 4b, los datos muestran que el procesamiento del Ejemplo 1 no degrada significativamente el L-tartrato de tolterodina cuando es analizado contra una línea de calibración ($y=9933x+1025,1$, $R^2=0,9985$). Área del pico real = 533719, área del pico anticipada de la línea de calibración (producida a partir de material de partida L-tartrato de tolterodina) = 499662.

Nuevamente con referencia a la Tabla 1, los Ejemplos C1 a C5 muestran que, fuera de los parámetros identificados con anterioridad, las partículas de L-tartrato de tolterodina tienen un D_{90} en exceso de 10 μm y en algunos casos un

D_{50} en exceso de 4 μm . Dichas partículas son menos adecuadas para inhalación o insuflación a cuenta de su tamaño más grande, o ciertamente pueden ser totalmente inadecuadas.

5 Con referencia a la Figura 5a, el SEM de las partículas obtenidas del ejemplo C1 muestra que una mayoría de las partículas es claramente mayor que 10 μm . No es proporcionado un análisis completo del tamaño de las partículas para esta muestra dado que el análisis del tamaño de las partículas de estas partículas resulta en la pulverización de las partículas durante el análisis y por lo tanto no son recolectados datos significativos.

10 Con referencia a la Figura 5b, el SEM de las partículas obtenidas del ejemplo C2 también muestra que una mayoría de las partículas es claramente mayor que 10 μm . Este precipitado es un polvo fluido, pero no es proporcionado un análisis completo del tamaño de las partículas para esta muestra dado que el análisis del tamaño de las partículas de estas partículas resulta en la pulverización de las partículas durante el análisis y por lo tanto no podrían ser recolectados datos significativos.

Con referencia a la Figura 5c, el SEM de las partículas obtenidas del ejemplo C3 es un polvo fino y fluido. Es conducido un análisis del tamaño de partículas y confirma un D_{90} en exceso de 10 μm .

15 Con referencia a la Figura 5d, el SEM de las partículas obtenidas del ejemplo C4 es un polvo fino y fluido. Es conducido un análisis del tamaño de partículas y confirma un D_{90} en exceso de 10 μm .

Con referencia a la Figura 5e, el SEM de las partículas obtenidas del ejemplo C5 es un polvo fino y fluido. Es conducido un análisis del tamaño de partículas y confirma un D_{90} en exceso de 10 μm y un D_{50} en exceso de 4 μm .

Ejemplo 34 - Hidroximetil tolterodina

Es conducido un experimento adicional para preparar partículas inhalables de hidroximetil tolterodina.

20 La hidroximetil tolterodina es precipitada, en el modo general de los Ejemplos 1 a 33, a partir de la solución de acetonitrilo (50,0 mg/ml) usando una temperatura de dióxido de carbono de 40°C, una presión de dióxido de carbono de 8,5 Mpa, una densidad de dióxido de carbono de 0,353, un flujo de solución de hidroximetil tolterodina de 0,32 g/min y flujo de dióxido de carbono de 36 g/min. El producto era un polvo fino fluido que tenía D_{50} y D_{90} percentiles de 1,2 μm y 3,1 μm y diámetro volumétrico medio de 1,5 μm respectivamente. La muestra es amorfa por PXRD.

Ejemplo 35 - Consistencia de partida

Los resultados de reproducibilidad de siete partidas de L-tartrato de tolterodina producidos usando las mismas condiciones que en el Ejemplo 1 son mostrados en la Figura 6 en la forma de una curva de distribución del tamaño de las partículas. El análisis del tamaño de las partículas del producto fue llevado a cabo usando el Analizador del tamaño de las partículas Sympatec Helos usando una presión de aerosolización de 0,4 Mpa.

30 Las partículas poseían una diámetro medio de $D_{50}=1,4$ μm con un percentil del diámetro de $D_{90}=3,3$ μm y un diámetro volumétrico medio (VMD) = 1,7 μm . Estos datos demuestran la excelente reproducibilidad bajo condiciones del proceso del Ejemplo 1 y confirman la adecuabilidad de la distribución del tamaño de las partículas para aplicaciones de administración respiratoria de fármacos.

Ejemplo 36 - Biodisponibilidad de estudios inhalados en ratas para L-tartrato de tolterodina precipitado en el Ejemplo 1

35 Tres grupos de dosis de ratas Sprague-Dawley machos (cada grupo de dosis contiene 5 ratas), intervalo de peso 300-350 g son obtenidos de Charles River (UK). Todos los procedimientos son conducidos por Huntington Life Sciences en cumplimiento con el United Kingdom Animals (Scientific Procedures) Act 1986. El estudio cumple con todas las secciones aplicables del Act and the associated Codes of Practices for the Housing and Care used in Scientific procedures and the Humane Killing of Animals under Schedule 1 to the Act, emitidos de acuerdo con Section 21 of the Act.

40 El L-tartrato de tolterodina, producido como es descrito en el Ejemplo 1 para la administración en aerosol, es preparado en un accionador de cápsula que es capaz de cargar, perforar, aerosolizar los contenidos y descargar cápsulas individuales a través de un ciclo mecanizado secuencial (fabricado por Huntington Life Sciences, Cambs, UK). El aire comprimido es usado para aerosolizar los contenidos de las tapas. Las ratas son colocadas en una cámara de exposición, solo para nariz, estilo carrusel, y se les permite inhalar durante 10 minutos.

45 Son estudiados tres niveles de dosis de L-tartrato de tolterodina aerosolizado de 0,1 mg/kg, 0,3 mg/kg y 1 mg/kg. Ambas muestras son tomadas antes de la dosis y 0,17, 0,33, 0,5, 1, 2, 4, 8, 12 y 24 horas después del tratamiento con fármaco en aerosol.

50 La administración de aerosol (Figuras 7, 8 y 9) produce una elevación instantánea en la concentración plasmática de tolterodina. Los datos muestran que la exposición es rápida con aproximadamente 80% de exposición pico en el primer punto de referencia mensurable. La exposición diana de 8 nM fue detectada en cuatro de las cinco ratas en el grupo 2 al nivel de dosis de 0,3mg/kg con rápida eliminación del fármaco de plasma en menos de 10 minutos en todas las

ratas de los 3 grupos.

Ejemplo 37 - Estudios de aerosolización in vitro de la formulación de DPI de emulsión de L-tartrato de tolterodina/lactosa en polvo (1:9 p/p)

5 Fueron conducidos estudios de Impactador de Cascada de Anderson (ACI) del comportamiento de aerosolización de dos partidas de composiciones farmacéuticas en polvo. En particular estos estudios determinan la dosis emitida total (TED), dosis de partículas finas (FPD), fracción de partículas finas como porcentaje de TED (FPF%), diámetro medio aerodinámico en masa (MMAD) y desviación estándar geométrica (GSD) de dos partidas de composiciones farmacéuticas en polvo de tolterodina/lactosa. También es conducida una comparación con composiciones molidas.

10 Las composiciones farmacéuticas en polvo son preparadas por emulsión de 2 g de L-tartrato de tolterodina obtenido por el procedimiento del Ejemplo 1 con 18g de monohidrato de α -lactosa (fracción de tamaño 63-90 μm) en una Mezcladora Turbula durante 30 minutos. Después de emulsionar 10 mg de polvo, la emulsión es llenada en cápsulas de gelatina dura tamaño 3 y las cápsulas individuales son colocadas en un dispositivo inhalador de polvo seco Cyclohaler antes de la activación del dispositivo con el ACI conectado y en operación.

15 Tres cápsulas, conteniendo cada un contenido de 10:90% p/p de emulsión de fármaco:lactosa son requeridas para cada 'ciclo' a un único caudal de 90 L/min.

Los datos de emisión de dosis son mostrados en la Tabla 2 y Tabla 3 para la partida 1 y 2, respectivamente. El polvo de lactosa usado es Lactosa Inhalable (Respitose, proporcionado por DFE Pharma Limited).

Tabla 2

	90 L/min
Dosis cargada (μg)	1000,00
TED (mg)	660,00
FPD (mg)	460,00
FPF% de TED	68,91
MMAD (μm)	1,20
GSD	2,30

20 Con referencia a la Tabla 2, son mostrados los datos medios (DE) obtenidos de ACI a 90 L/min para la partida 1 normalizada para 1 dosis (dosis nominal 1 mg). TED-Dosis emitida total; FPD-Dosis de partículas finas; FPF-Fracción de partículas finas, MMAD-Diámetro medio aerodinámico en masa y GSD-Desviación estándar geométrica.

Tabla 3

	90 L/min
Dosis cargada (μg)	1000,00
TED (mg)	650,00
FPD (mg)	440,00
FPF% de TED	67,51
MMAD (μm)	1,20
GSD	2,30

25 Con referencia a la Tabla 3, son mostrados los datos medios (DE) obtenidos de ACI a 90 L/min para la partida 2 normalizada para 1 dosis (dosis nominal 1 mg). TED-Dosis emitida total; FPD-Dosis de partículas finas; FPF-Fracción de partículas finas, MMAD-Diámetro medio aerodinámico en masa y GSD-Desviación estándar geométrica.

30 Los datos de las Tablas 1 y 2 muestran buen acuerdo entre la aerosolización de las dos partidas de formulación en polvo seco de tolterodina. Los valores de % de FPF a 90 L/min de 68,91 y 67,51 % indican muy buen rendimiento de la formulación en polvo de tolterodina.

De esta manera, ha sido descubierto que las partículas del Ejemplo 1 se desempeñan especialmente bien en una formulación "prototipo" y "el dispositivo inhalador disponible para comercialización", con dos partidas que muestran un

FPF de 68,91 y 67,51% de dosis emitida.

- 5 Se espera que una cifra comparativa para una formulación "prototipo" micronizada/molida esté más cerca de aproximadamente FPF % de 20-25%. Con referencia a la Figura 3b, los datos del tamaño de las partículas también muestran un porcentaje mucho más alto de partículas más grandes que 5 micrones (aproximadamente 20% en comparación con 10%) están presentes en la muestra micronizada en comparación con el material del Ejemplo 1. El hecho de que una partícula de tamaño de 5 micrones tenga el mismo volumen y por lo tanto, masa, que x1000 partículas de tamaño de 1 micrón significa que una proporción mucho mayor de una dosis del material micronizado es probable que sea pobremente depositada en los compartimentos pulmonares centrales y profundos del tracto respiratorio en comparación con el material del Ejemplo 1.
- 10 Ciertamente, esto es confirmado por los siguientes datos comparativos obtenidos de un estudio de impactador de cascada idéntico realizado usando, en lugar del material del Ejemplo 1, L-tartrato de tolterodina molido obtenido de acuerdo con el Ejemplo Comparativo anterior y que tiene una distribución del tamaño de las partículas mostrada en la Figura 3b.

Tabla 4

	90 L/min
Dosis cargada (µg)	1000,00
TED (mg)	865,00
FPD (mg)	225,00
FPF% de TED	26,12
MMAD (µm)	1,65
GSD	3,85

- 15 Puede ser concluido a partir del Ejemplo 37 que el material de los Ejemplos 1 a 33, en particular del Ejemplo 1, es especialmente adecuado para inhalación e insuflación. Ha sido demostrado que el material de acuerdo con los Ejemplos tiene un FPF % en gran medida superior.

- 20 Dado el alto FPF informado en el Ejemplo 37, es previsto que el material, una vez inhalado o insuflado, proporcione una absorción rápida de tolterodina, a un índice más rápido que una dosis comparable de tolterodina micronizada. Las partículas más pequeñas tienden a ser absorbidas más rápidamente. Esto también es consistente con los datos obtenidos en el Ejemplo 36.

Ejemplo 38 - Uso farmacéutico

- 25 Dados los resultados de los Ejemplos 1 a 37, y la eficacia clínica de la tolterodina demostrada en la técnica anterior, son proporcionadas composiciones farmacéuticas que comprenden el material de cualquiera de los Ejemplos 1 a 33, por ej., una composición farmacéutica como es descrita en el Ejemplo 37, para uso en el tratamiento, en un ser humano u otro mamífero, de un trastorno seleccionado del grupo que consiste en: trastorno urinario, asma, EPOC y rinitis alérgica por inhalación o insuflación, en particular administración pulmonar.

- 30 Es proporcionada una composición farmacéutica de acuerdo con la invención, por ej., como es descrito en el Ejemplo 37, para tratamiento, en un ser humano u otro mamífero, de trastorno urinario por inhalación o insuflación. La composición es terapéuticamente efectiva con un mínimo de efectos colaterales peligrosos.

- Es proporcionada una composición farmacéutica de acuerdo con la invención, por ej., como es descrito en el Ejemplo 37, para tratamiento, en un ser humano u otro mamífero, de asma por inhalación o insuflación. La composición es terapéuticamente efectiva con un mínimo de efectos colaterales peligrosos.

- 35 Es proporcionada una composición farmacéutica de acuerdo con la invención, por ej., como es descrito en el Ejemplo 37, para tratamiento, en un ser humano u otro mamífero, de EPOC por inhalación o insuflación. La composición es terapéuticamente efectiva con un mínimo de efectos colaterales peligrosos.

- 40 Es proporcionada una composición farmacéutica de acuerdo con la invención, por ej., como es descrito en el Ejemplo 37, para tratamiento, en un ser humano u otro mamífero, de rinitis alérgica por inhalación o insuflación. La composición es terapéuticamente efectiva con un mínimo de efectos colaterales peligrosos.

De manera adecuada, las composiciones proporcionan un alivio sintomático rápido o un inicio rápido de la acción de tolterodina como es definido con anterioridad. Por ejemplo, son proporcionados compuestos de acuerdo con la invención, por ej., como es descrito en el Ejemplo 37, para un tratamiento que proporciona un alivio rápido de la incontinencia urinaria, en particular incontinencia de urgencia, incontinencia por estrés, o incontinencia mixta, en un

ES 2 803 030 T3

ser humano u otro mamífero, por inhalación o insuflación. La composición es efectiva con un mínimo de efectos colaterales peligrosos.

REIVINDICACIONES

1. Una formulación en polvo que comprende partículas de tolterodina o un compuesto relacionado con tolterodina seleccionado de (R)-N,N-diisopropil-3-(2-hidroxi-5-hidroximetilfenil)-3-fenilpropanamina, (S)-N,N-diisopropil-3-(2-hidroxi-5-metilfenil)-3-fenilpropanamina, (S)-N,N-diisopropil-3-(2-hidroxi-5-hidroximetilfenil)-3-fenilpropanamina, (R,S)-N,N-di-isopropil-3-(2-hidroxi-5-metilfenil)-3-fenilpropanamina, y (2-[(1R)-3-(di(propan-2-il)amino)-1-fenilpropil]-4-(hidroximetil)fenil]2-metilpropanoato), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, siendo dichas partículas obtenibles por precipitación supercrítica antidisolvente (SAS) y teniendo un D_{50} de 4 μm o menor y un D_{90} de 10 μm o menor.
2. La formulación en polvo de la reivindicación 1, en la que dichas partículas tienen un D_{50} de 2,5 μm o menor, y/o dichas partículas tienen un D_{90} de 6 μm o menor y/o el D_{50} de dichas partículas es de 1 μm o mayor y/o el D_{90} de dichas partículas es de 2 μm o mayor y/o el diámetro volumétrico medio de dichas partículas es de 7 μm o menor.
3. La formulación en polvo de cualquier reivindicación precedente, en la que dichas partículas tienen una distribución unimodal del tamaño de partículas.
4. La formulación en polvo de cualquier reivindicación precedente, en la que dichas partículas comprenden tolterodina.
5. La formulación en polvo de cualquier reivindicación precedente, en la que dichas partículas comprenden L-tartrato de tolterodina.
6. Un procedimiento de formación de una formulación en polvo de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, comprendiendo el procedimiento poner en contacto un fluido supercrítico con una solución de tolterodina, compuesto relacionado con tolterodina seleccionado de (R)-N,N-diisopropil-3-(2-hidroxi-5-hidroximetilfenil)-3-fenilpropanamina, (S)-N,N-diisopropil-3-(2-hidroxi-5-metilfenil)-3-fenilpropanamina, (S)-N,N-diisopropil-3-(2-hidroxi-5-hidroximetilfenil)-3-fenilpropanamina, (R,S)-N,N-di-isopropil-3-(2-hidroxi-5-metilfenil)-3-fenilpropanamina, y (2-[(1R)-3-(di(propan-2-il)amino)-1-fenilpropil]-4-(hidroximetil)fenil]2-metilpropanoato), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables para precipitar dichas partículas.
7. El procedimiento de la reivindicación 6, en el que el antidisolvente tiene una densidad en el intervalo de 0,20 a 0,75 g/cm^3 , y en el que la fracción de masa del antidisolvente puesto en contacto en comparación con la fracción de masa de la solución puesta en contacto es de 30 o mayor.
8. El procedimiento de la reivindicación 6 o reivindicación 7, en el que la fracción de masa del antidisolvente puesto en contacto en comparación con la fracción de masa de la solución puesta en contacto es de 200 o mayor.
9. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de partículas de tolterodina o un compuesto relacionado con tolterodina seleccionado de (R)-N,N-diisopropil-3-(2-hidroxi-5-hidroximetilfenil)-3-fenilpropanamina, (S)-N,N-diisopropil-3-(2-hidroxi-5-metilfenil)-3-fenilpropanamina, (S)-N,N-diisopropil-3-(2-hidroxi-5-hidroximetilfenil)-3-fenilpropanamina, (R,S)-N,N-di-isopropil-3-(2-hidroxi-5-metilfenil)-3-fenilpropanamina, y (2-[(1R)-3-(di(propan-2-il)amino)-1-fenilpropil]-4-(hidroximetil)fenil]2-metilpropanoato), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, comprendiendo la composición, o consistiendo en, una formulación en polvo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.
10. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 9, en la que la composición es una composición en polvo seco.
11. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 9 o reivindicación 10 para uso como un medicamento.
12. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 9 o reivindicación 10 para uso en el tratamiento de un trastorno seleccionado del grupo que consiste en: trastorno urinario, asma, EPOC, y rinitis alérgica, en el que dicho tratamiento es por inhalación o insuflación.
13. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 9 o reivindicación 10 para uso en el tratamiento de trastorno urinario por inhalación o insuflación.
14. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 9 o reivindicación 10 para uso en el tratamiento de incontinencia de urgencia, incontinencia por estrés o incontinencia mixta.
15. Un inhalador de dosis medida o un inhalador de polvo seco que contiene para dispensación una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 9 o reivindicación 10.

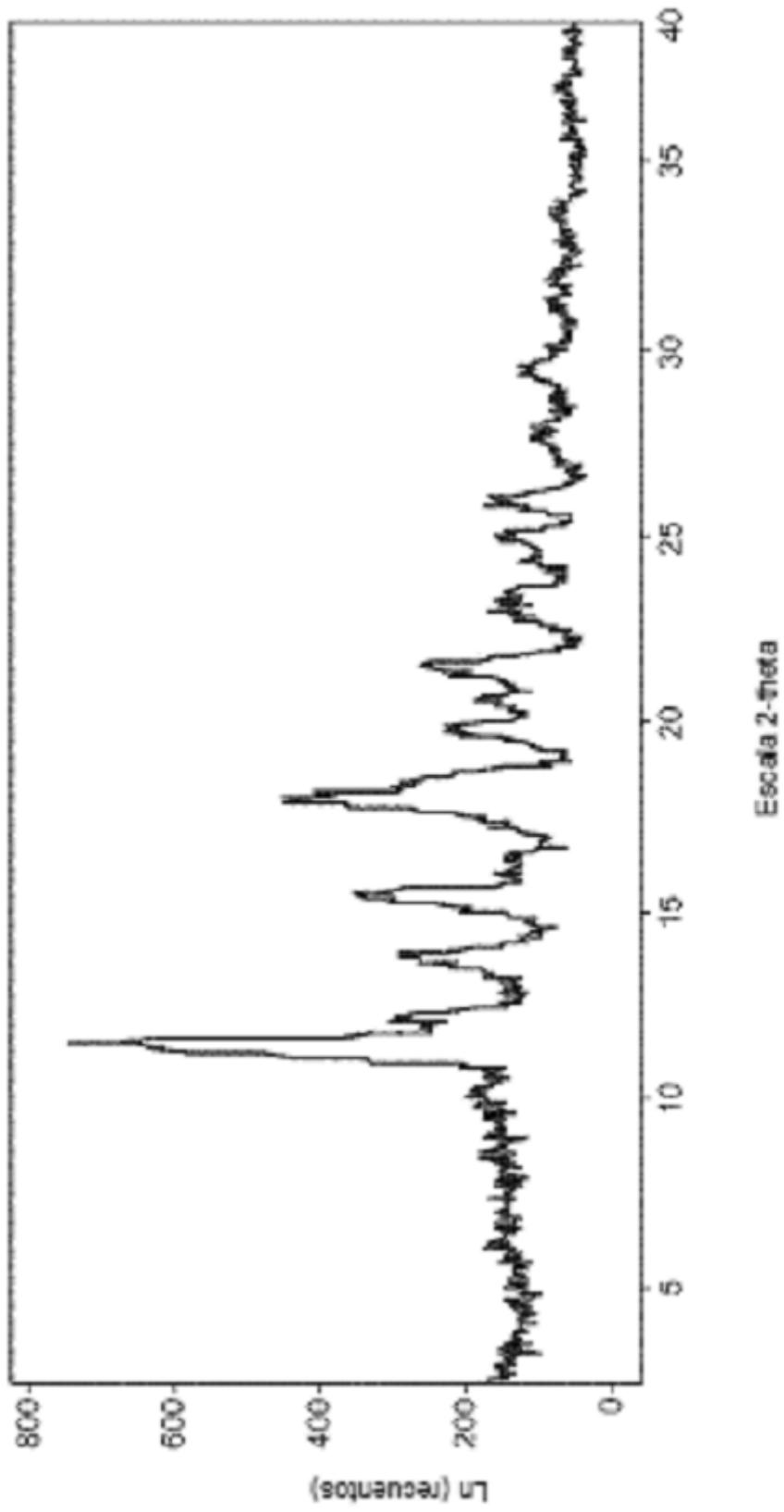


Figura 1

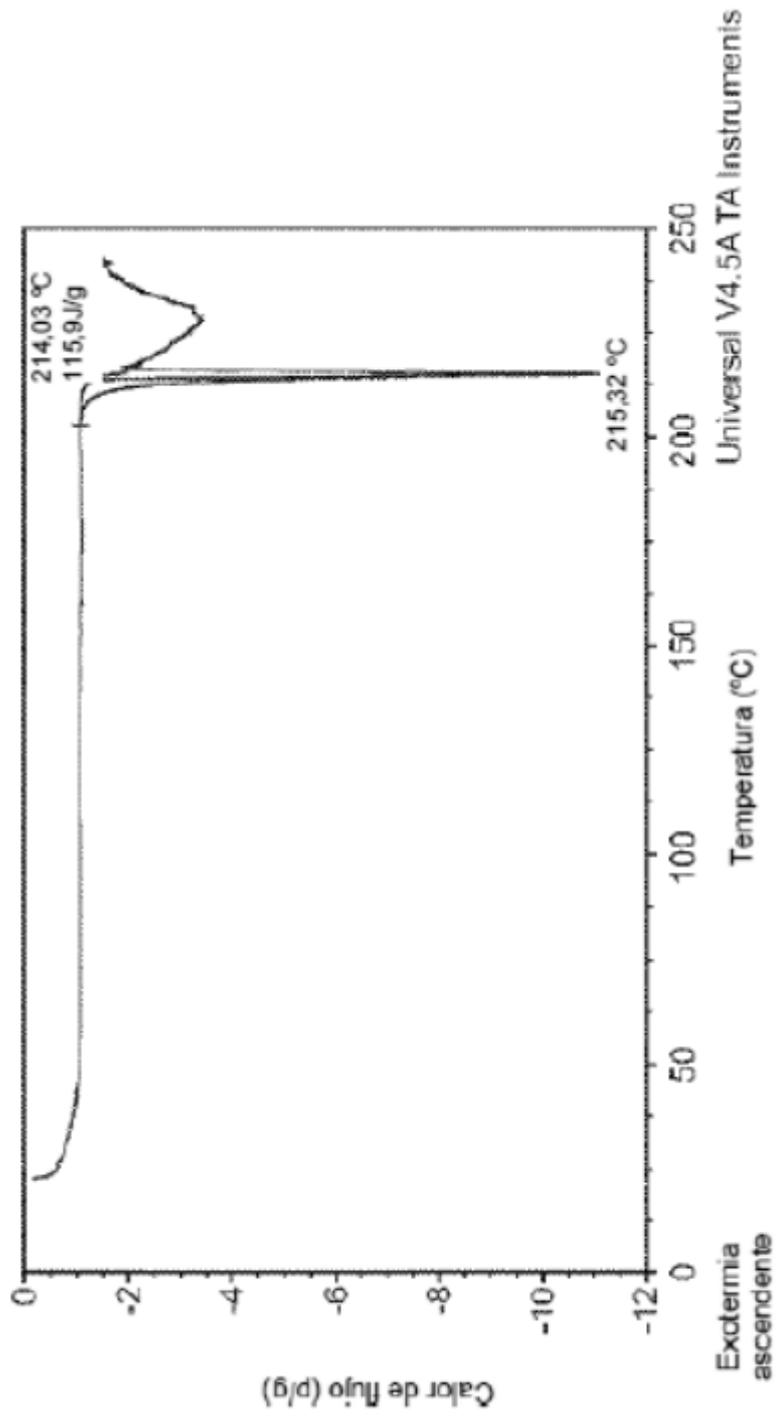


Figura 2a

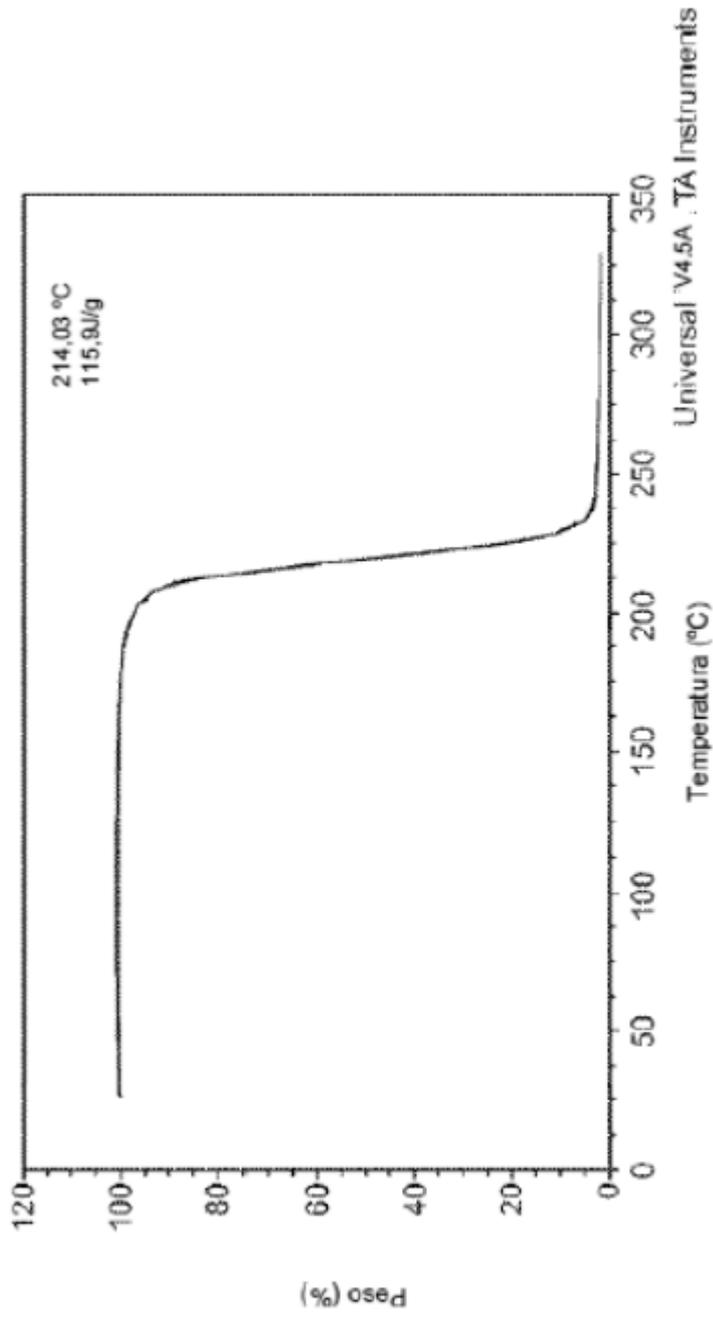


Figura 2b

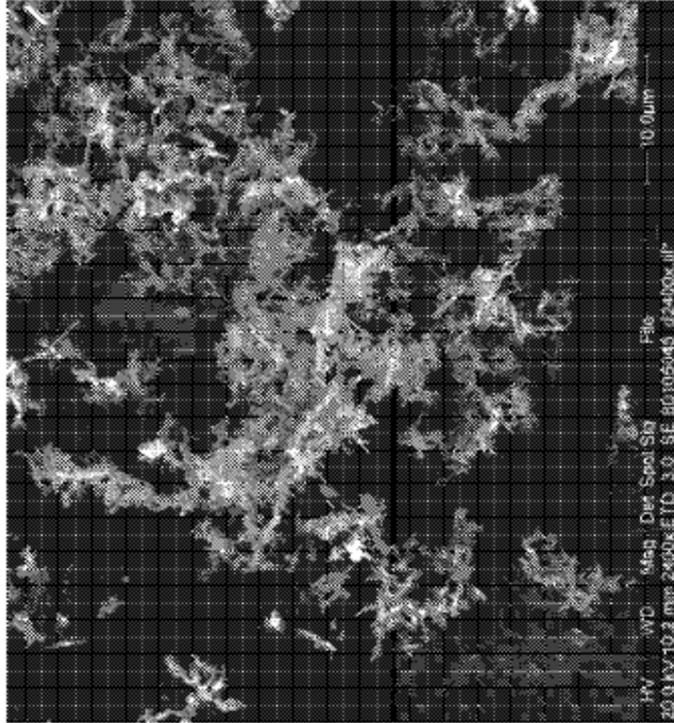


Figura 3a

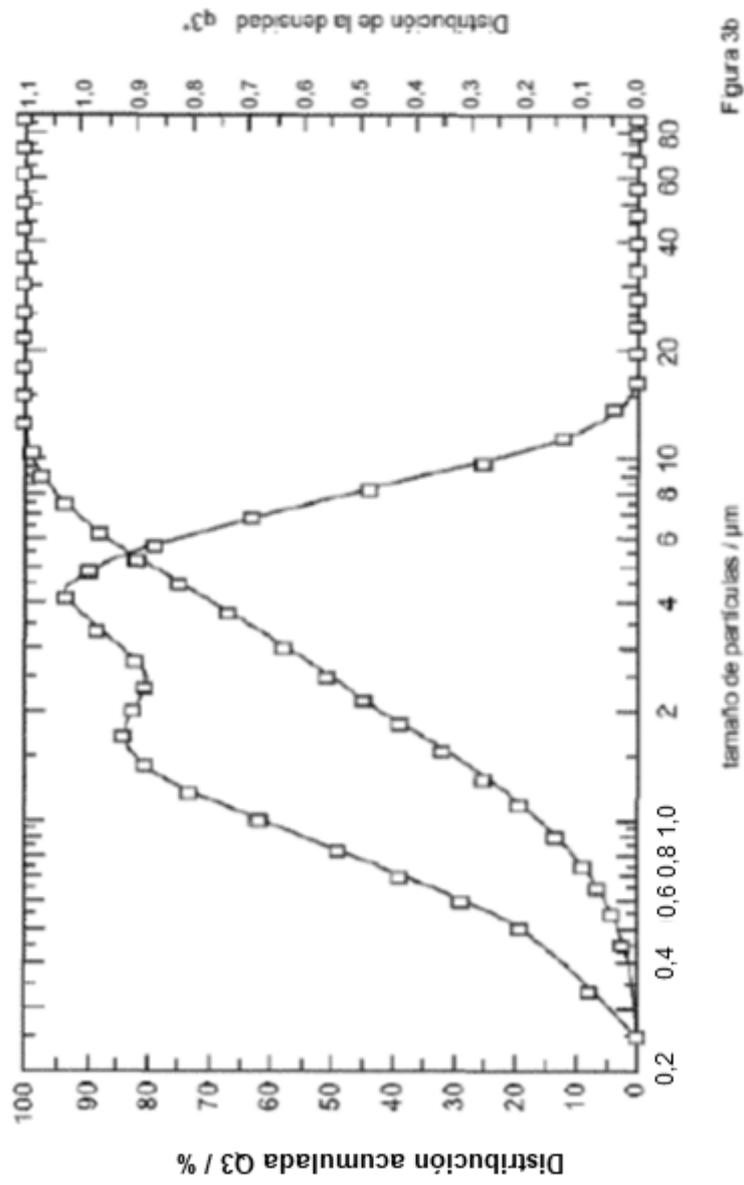


Figura 3b
(técnica anterior)

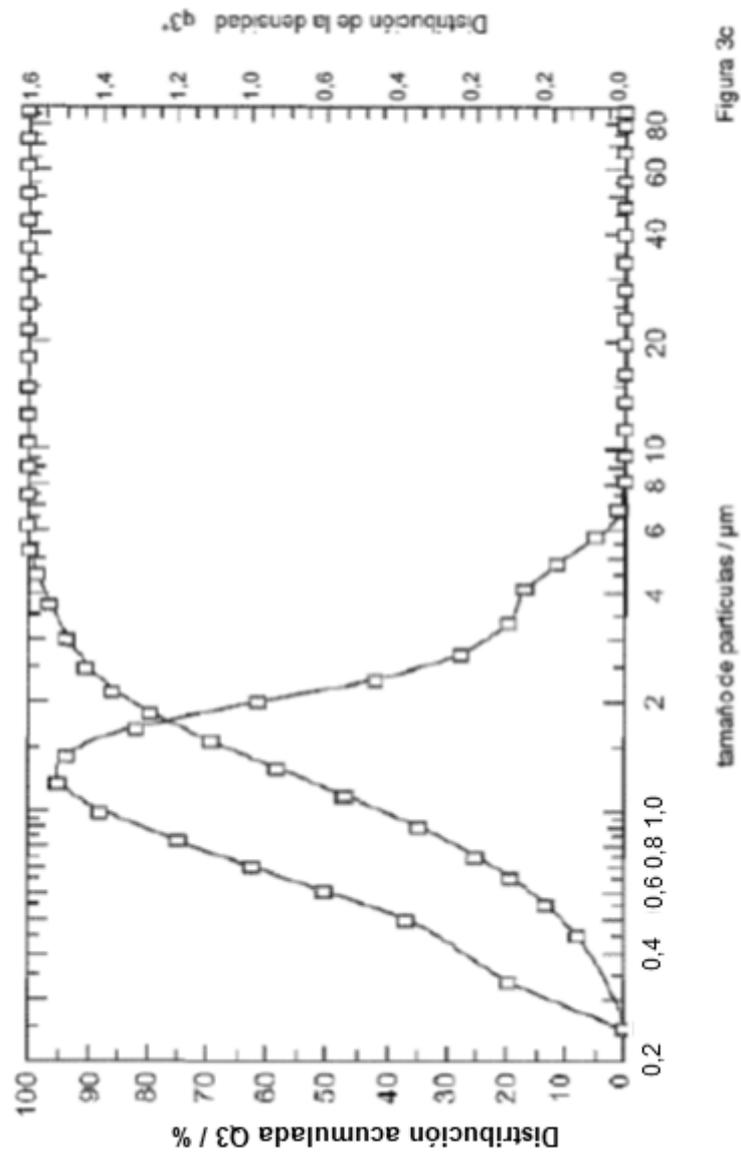


Figura 3c

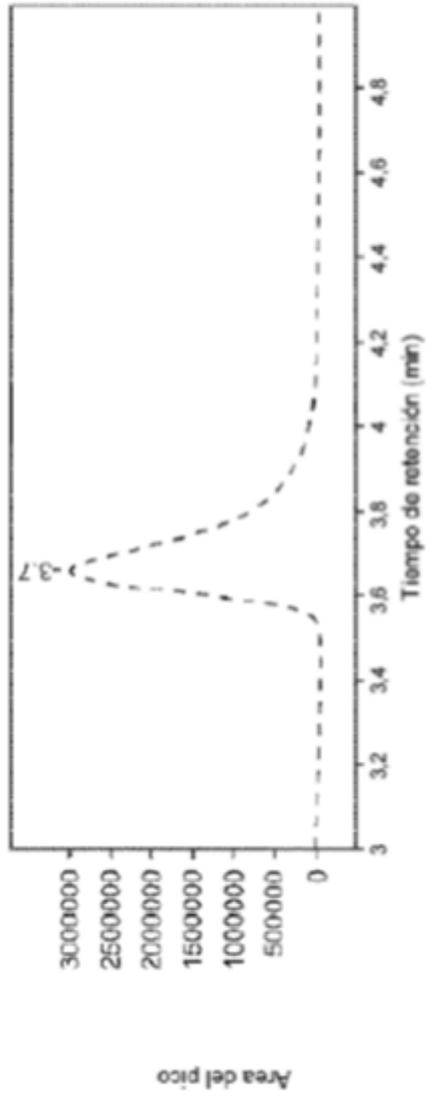


Figura 4a

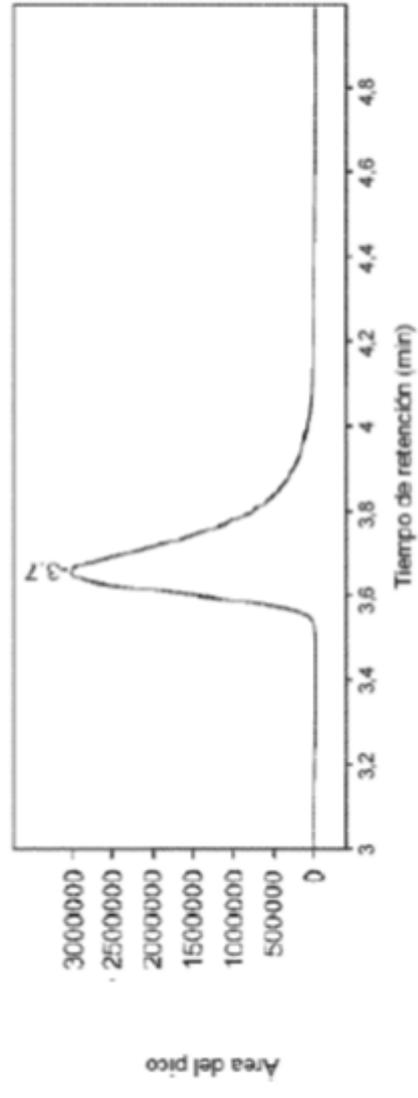


Figura 4b

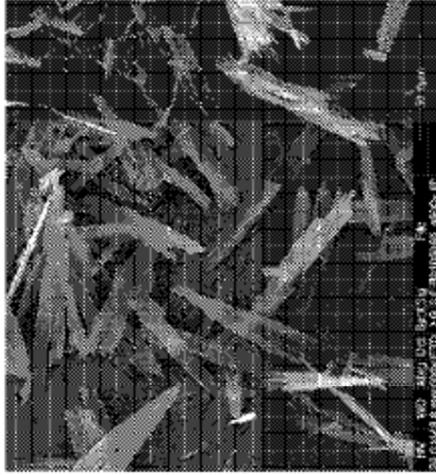


Figura 5b

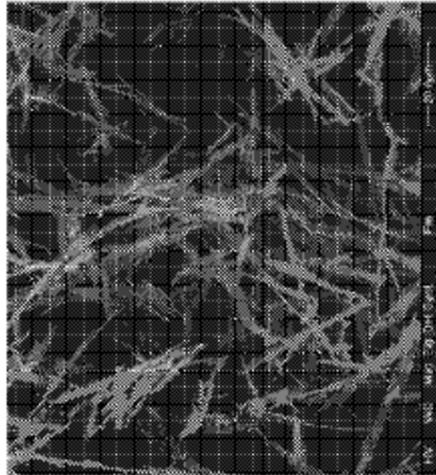


Figura 5a



Figure 5d



Figure 5c



Figure 5e

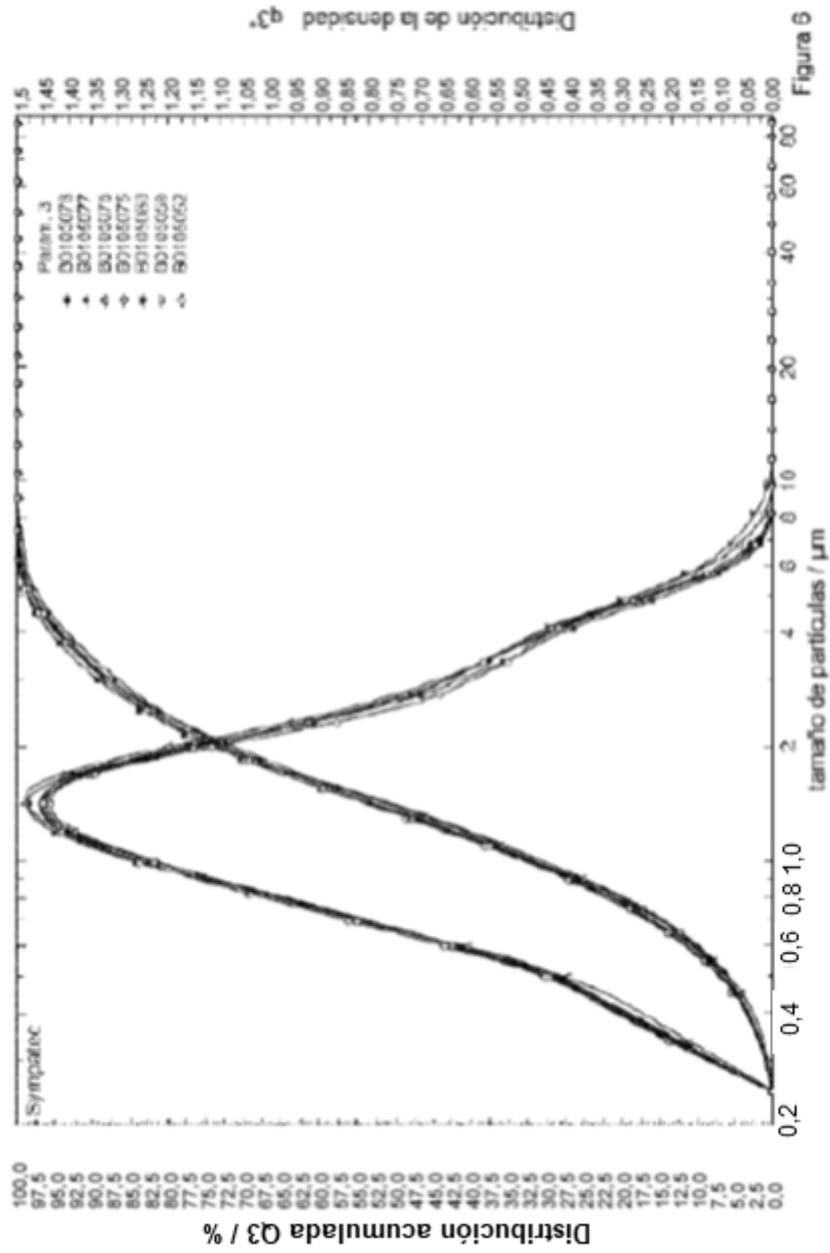


Figura 6

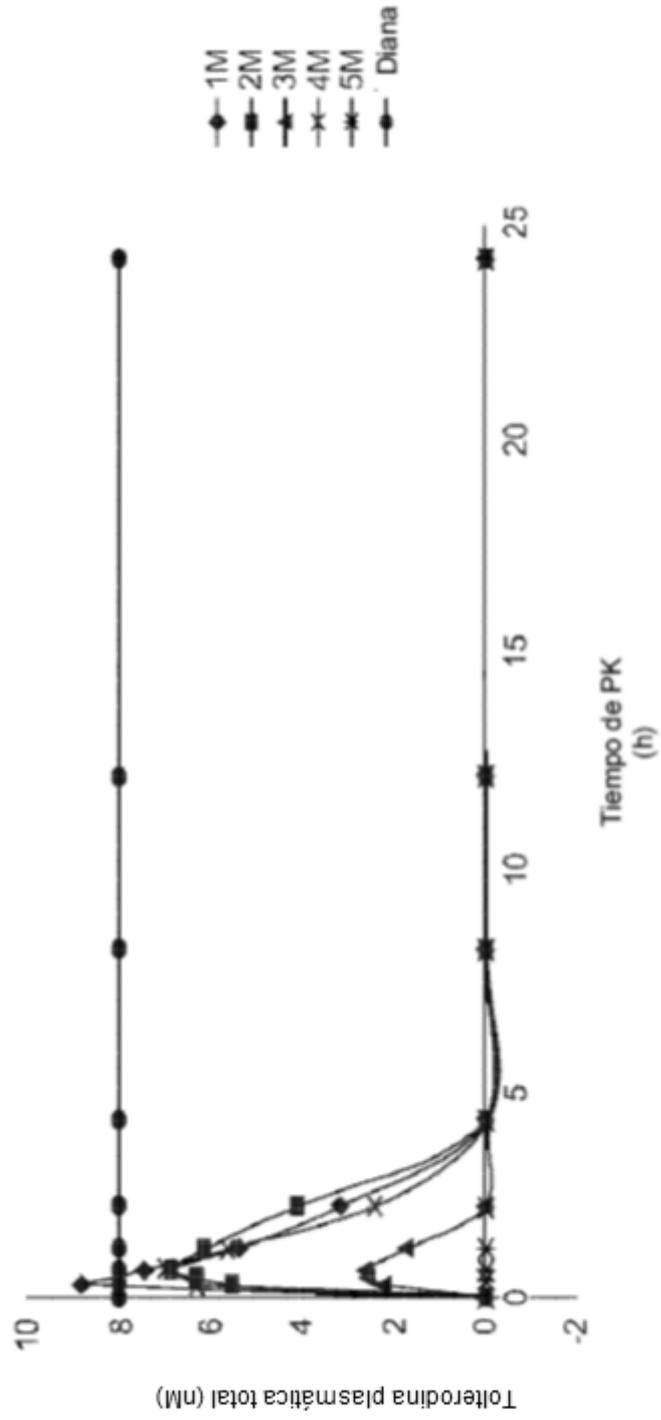


Figura 7

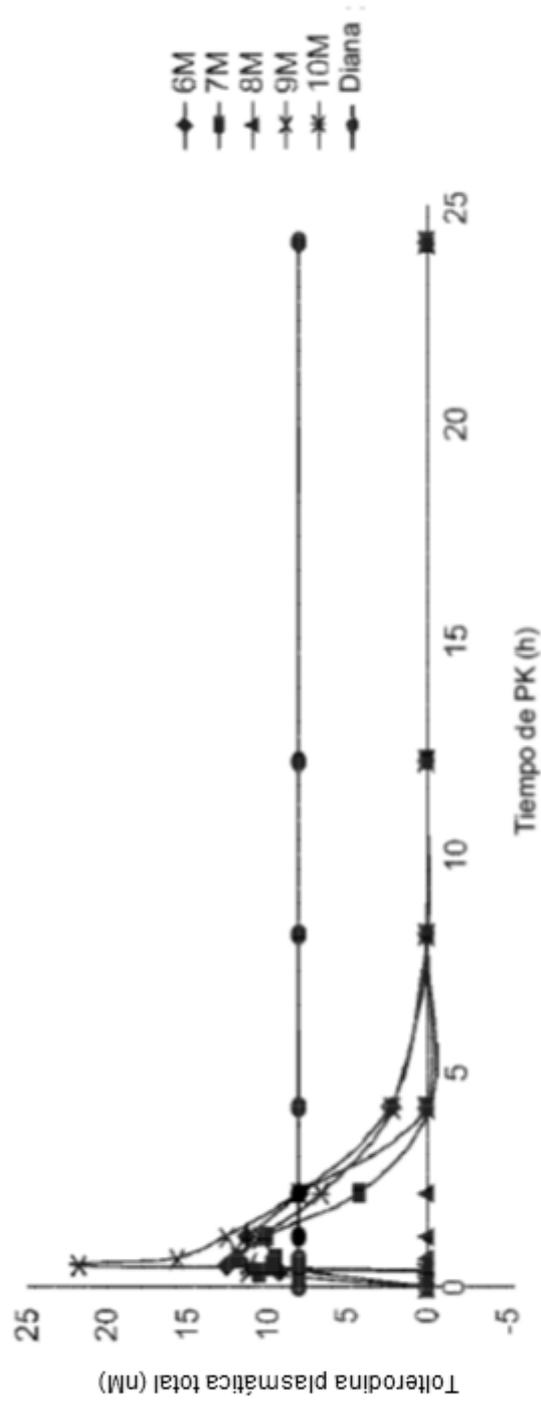


Figura 8

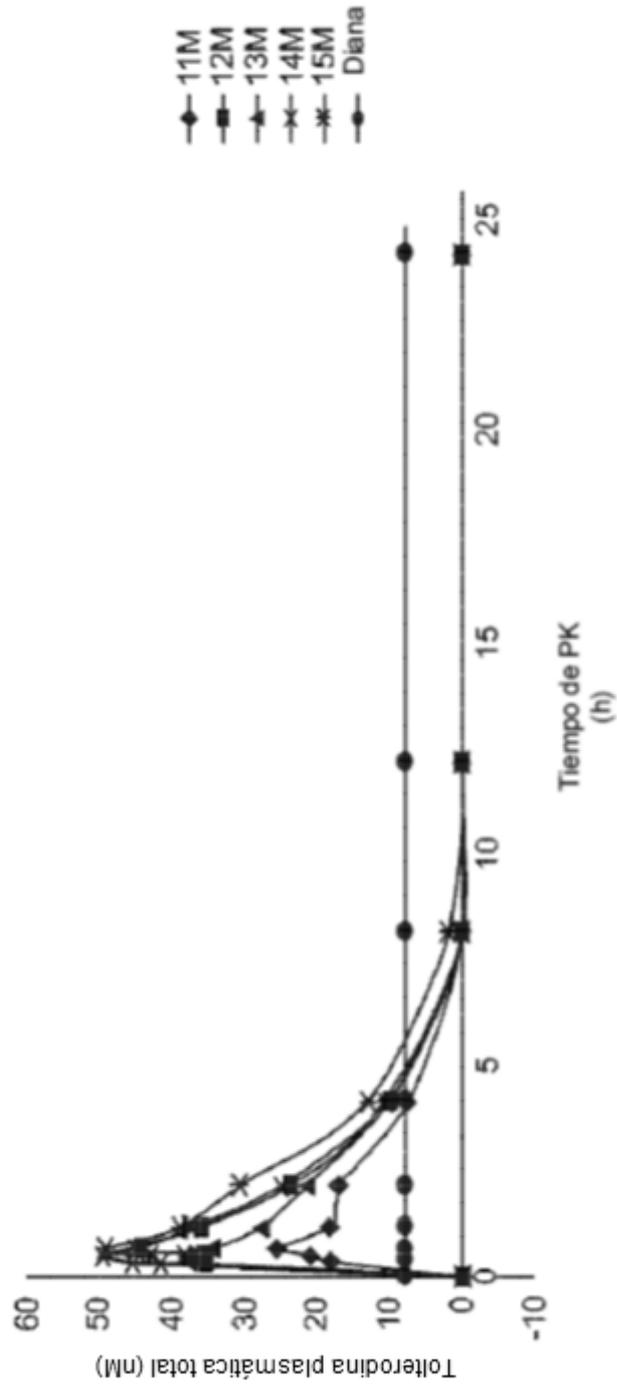


Figura 9

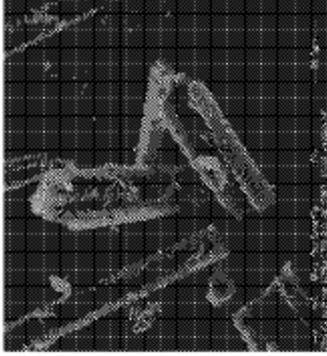


Figura 10b (técnica anterior)

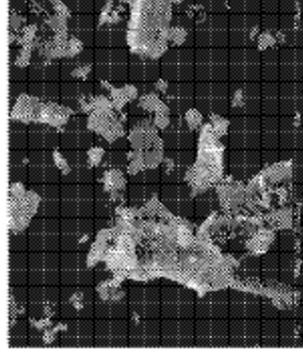


Figura 10d (técnica anterior)

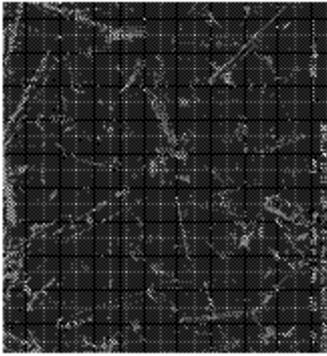


Figura 10a (técnica anterior)

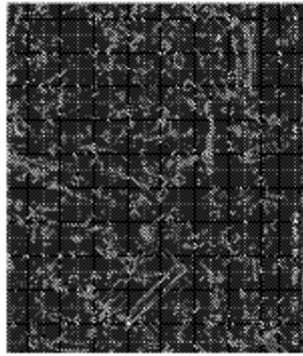


Figura 10c (técnica anterior)